

omaggio dell'autore

DOTT. E. VERATTI

Aiuto e libero docente di Patologia Generale nell'Università di Pavia

Lo stato attuale degli studi sul Cancro

Nuovi fatti e nuovi problemi
risultanti dalle ricerche istologiche sui tumori maligni

RELAZIONE

FATTA AL DICIANNOVESIMO CONGRESSO DI MEDICINA INTERNA
tenuto in Milano — 5 Ottobre 1909



ROMA

STABILIMENTO CROMO-TIP. CARLO COLOMBO

1910

DOTT. E. VERATTI

Aiuto e libero docente di Patologia Generale nell'Università di Pavia

Lo stato attuale degli studi sul Cancro

Nuovi fatti e nuovi problemi
risultanti dalle ricerche istologiche sui tumori maligni

RELAZIONE

FATTA AL DICIANNOVESIMO CONGRESSO DI MEDICINA INTERNA
tenuto in Milano — 5 Ottobre 1909



ROMA

STABILIMENTO CROMO-TIP. CARLO COLOMBO

1910

Fra le questioni di ordine morfologico, che si discutono intorno ai tumori, quella, che, con denominazione generica e quindi per necessità poco precisa, viene indicata come questione della metaplasia degli elementi, merita il primo posto, sia per la sua importanza dottrinale, sia per la sua importanza pratica.

Ad un fatto di metaplasia si può ricondurre l'origine stessa dei blastomi, quel processo ancora completamente oscuro nelle sue cause e nel suo meccanismo, per cui da elementi normali derivano generazioni di elementi atipici per forma, struttura e proprietà biologiche. Ad un diverso apprezzamento dei limiti da assegnarsi ai fenomeni di metaplasia si ricollegano la maggior parte delle divergenze, che sono ancora grandissime, sulla classificazione dei tumori e sulla definizione stessa del concetto di tumore; come tentativi di produzione sperimentale di metaplasie, trasmissibili per eredità da cellula a cellula, si possono interpretare tutti i procedimenti escogitati per provocare artificialmente delle lesioni neoplastiche.

Se poi il problema si considera da un punto di vista generale, non possono sfuggire i rapporti fra la metaplasia ed i processi di differenziazione degli elementi nello sviluppo dell'embrione, quando si verificano quelle aberrazioni che danno luogo alle formazioni teratologiche, nè si può dubitare che nello stesso ordine di fenomeni rientrano i casi di variazione o di mutazione parziale, spontanei o provocati sperimentalmente, che tanto interesse hanno suscitato nel campo della biologia vegetale in seguito agli studi di de Vries e de' suoi seguaci.

Tutti questi fatti, in apparenza tanto disparati, hanno un carattere comune, che giustifica il loro raggruppamento; tutti infatti rappresentano l'effetto di un perturbamento nelle leggi, che regolano i rapporti fra gli elementi di ogni organismo complesso, la conseguenza di un arresto o di una deviazione di quelle forze, di cui noi possiamo constatare gli effetti senza indovinarne la natura, alle quali è dovuto se i singoli elementi di un organismo armonizzano la loro attività nutritiva, riproduttiva e funzionale in modo da costituire dei tipi specifici morfologicamente e funzionalmente costanti.

L'importanza pratica dell'argomento è evidente: da un inesatto apprezzamento dei fenomeni di metaplasia, scrive *Ribbert* in un'opera recente (1), deriva l'impossibilità della diagnosi di origine dei tumori in base ai caratteri istologici e viene a mancare il filo conduttore per orientarsi in questo campo della istopatologia.

Dalle ricerche sperimentali sui tumori trasmissibili degli animali si sono ottenuti in questi ultimi anni dei risultati, che colla questione della metaplasia degli elementi hanno stretti rapporti e che, se sono ben lontani dall'essere riusciti a risolvere il problema fondamentale, legato, come ho detto, da intime relazioni alle leggi generali, che regolano lo sviluppo e determinano la forma degli esseri viventi, hanno portato però nella discussione nuovi elementi di fatto aventi quel carattere di determinatezza e di precisione, che è proprio dei risultati sperimentali in confronto di quelli della semplice osservazione dei fenomeni, che si svolgono spontaneamente in natura. Fra questi risultati i più importanti sono quelli che includono la dimostrazione della possibilità di profonde mutazioni di struttura nei tumori dei topi e dei ratti nel corso di successive generazioni prodotte per innesto da animale ad animale.

Ehrlich ed *Apolant* (2) per i primi in tre casi assistettero alla trasformazione di un adeno-carcinoma della mammella del topo in un sarcoma a cellule fusate. L'interessante fenomeno si produsse spontaneamente e si svolse nel modo seguente: dei ceppi di tumore del topo a struttura di adeno-carcinoma, di origine probabilmente mammaria, erano stati riprodotti per innesto da animale ad animale per lungo tempo, in un caso per ben 68 generazioni svoltesi in un periodo di due anni e mezzo, senza traccia di variazione dei loro caratteri istologici, quando all'improvviso apparve una modifi-

cazione nello stroma connettivale, che cominciò ad aumentare di volume e ad arricchirsi di elementi cellulari del tipo dei fibroblasti giovani, fino ad assumere, nel corso di poche generazioni, uno sviluppo preponderante sulla parte epiteliale del tumore e struttura di vero sarcoma a cellule fusate, rotonde o polimorfe. La formazione a questo punto aveva assunto il tipo classico del Carcinoma sarcomatodes di Hanseemann.

Successivi trapianti di questi tumori misti hanno dimostrato la tendenza della parte sarcomatosa a prendere il sopravvento sulla parte epiteliale, così che presto si arrivò alla completa scomparsa del tessuto canceroso, risultandone un sarcoma puro, che continuò a riprodursi come tale per innesto da topo a topo. Richiamata l'attenzione sul fenomeno, in breve la letteratura si arricchì delle relazioni su casi analoghi osservati nel topo da *Loeb* (3), da *Liebman* (4), da *Bashford* (5), mentre *Lewin* (6) trovava nel ratto un adeno-carcinoma della mammella, che nel corso di 11 generazioni mostrò una eccezionale variabilità, dando luogo allo sviluppo dapprima di nodi di cancro a cellule piatte a tipo epidermico, poi a sarcoma a cellule fusate ed a cellule rotonde ed infine a diverse forme miste.

Sulla interpretazione di questi fenomeni, che si possono definire di vera mutazione, usando la parola nel senso di de Vries, perchè siamo di fronte ad individualità cellulari che acquistano caratteri nuovi e li trasmettono per eredità ai loro discendenti, si è accesa una lunga discussione, che ancora non è chiusa.

Una delle supposizioni fra le prime che si presentano alla mente, è che i ceppi, nei quali la trasformazione sarcomatosa si verifica, derivino da tumori primitivamente misti, cancro-sarcomi, e che la porzione sarcomatosa, passata inosservata nel tumore primitivo per la sua limitata estensione, vada assumendo uno sviluppo preponderante nei trapianti successivi. Questa idea, che fu sostenuta da *Hanseemann* (7) e da *Schlagenhauser* (8), troverebbe fondamento nel fatto che la possibilità dell'esistenza di tumori misti primitivi, lasciando da parte i numerosi esempi della patologia umana, è stata dimostrata pel topo da *Ehrlich* ed *Apolant* (9), che descrissero due casi, uno di vero cancro sarcomatode, l'altro di sarcoma con inclusione di piccole isole epiteliali.

Il fenomeno della trasformazione sarcomatosa sarebbe solo una apparenza legata ad un processo di selezione fra i costituenti di un

tumore misto; modificazioni dell'ambiente, variazioni nelle condizioni biologiche dell'animale portatore del tumore, sarebbero le cause che determinano lo sviluppo di uno dei componenti del tumore a scapito dell'altro; nei casi in esame del sarcoma a scapito del cancro.

Qualche cosa di analogo avviene nelle culture dei micro-organismi su substrati nutritivi artificiali; è ben certo infatti che modificando il terreno e le condizioni della cultura si può determinare in una miscela di batteri la prevalenza di una specie su un'altra.

Così pure se si segue lo sviluppo dei teratomi, che si ottengono sperimentalmente coll'inoculazione di interi embrioni macinati, è facile verificare — ed il fatto è noto da tempo — che certe categorie di cellule, per esempio le cellule cartilaginee, gli elementi delle ossa, certi epiteli, assumono fin dal principio uno sviluppo prevalente su tutte le altre, riuscendo a costituire la maggior parte del teratoma e che nel periodo di regressione certi tessuti resistono più a lungo degli altri, così che gli ultimi nodi superstiti dei teratomi vengono ad essere da essi costituiti quasi in totalità.

Contro a questi argomenti indiretti stanno però delle osservazioni di fatti precise e ben determinate: come si può accettare l'ipotesi, che si trattasse di un tumore primitivamente misto, nel caso di Ehrlich ed Apolant, nel quale la trasformazione in sarcoma si iniziò ad un tratto, dopo che per ben 68 generazioni la neoplasia si era riprodotta come cancro, dopo che nel lungo periodo di oltre due anni i tumori delle successive generazioni erano stati insistentemente studiati dal punto di vista istologico senza scoprirvi traccia di tessuto sarcomatoso?

Di un valore quasi decisivo contro questa ipotesi mi sembrano poi le ricerche di *Haaland* (10), che avrò occasione di riferire più ampiamente in seguito, nelle quali il processo di trasformazione sarcomatosa dello stroma di un cancro del topo è stato seguito passo a passo e furono sottoposte a finissima analisi istologica le modificazioni, che lo stroma subisce nelle generazioni precedenti a quella nella quale la trasformazione sarcomatosa farà la sua apparizione.

Meno reciso deve essere il nostro giudizio sul caso di Lewin; qui forse non si può escludere il sospetto che nel tumore primitivo, accanto alla neoplasia mammaria, esistessero già dei nodi di epitelio piatto di origine epidermica, che si trattasse di un tumore misto sul tipo degli adeno-cancro i di descritti da Herxheimer nello

stomaco, nell'intestino e nel pancreas, oppure di una neoplasia ravvicinabile ai Basalzellenkrebse di Krompecher; l'A. però insiste nel far notare che i nodi a tipo cancroide apparvero per la prima volta solo alla terza generazione e poi saltuariamente nelle generazioni successive, con una decisa prevalenza negli animali inoculati sotto cute in confronto di quelli inoculati in peritoneo, che il tumore primitivo era indipendente dalla cute e mobile nel connettivo sottocutaneo ed esaminato con insistenza in varii punti, non presentava assolutamente traccia di nodi a tipo epidermico. Su questo caso che, riguardo alla descrizione delle particolarità istologiche lascia molto a desiderare, è doveroso ricordare anche che Orth (11), dopo aver osservato i preparati di Lewin, affermò di non essere riuscito a convincersi della presenza in essi di vero sarcoma inclinando piuttosto a credere che si trattasse di un tessuto di granulazione.

Ammesso che, per alcuni casi più completamente ed accuratamente studiati, si debba riconoscere come dimostrato che la trasformazione di cancri puri in tumori misti del tipo del Carcinoma sarcomatodes può verificarsi per una mutazione degli elementi dello stroma connettivale, si domanda quali siano le cause del fenomeno e quale il meccanismo con cui si compie.

Una prima ipotesi deriva dal concetto che gli elementi connettivali, passati da animale ad animale insieme al tessuto canceroso, possano subire una modificazione (simile a quella che si avvera in identiche condizioni nei batteri e che noi, con termine poco preciso, indichiamo come aumento di virulenza) acquistando delle proprietà aggressive di fronte ai tessuti dell'ospite e capacità di rapida ed indefinita proliferazione. In favore di questa idea starebbe il fatto delle modificazioni biologiche paragonabili all'aumento di virulenza dei batteri (maggior facoltà di attecchimento - sviluppo più rapido) che, come risulta specialmente dagli studi di Ehrlich, gli elementi dei tumori dei topi subiscono nel corso di una serie di trapianti da animale ad animale. Ma in senso contrario parlano la notevole rarità della trasformazione sarcomatosa nel grande numero di ceppi di di cancri del topo, che vengono coltivati nei diversi istituti, la nessuna regolarità del fenomeno, che talvolta si inizia già ai primi passaggi, talvolta appare solo dopo numerose generazioni, e, più di tutto, il fatto dimostrato da Bashford e da Haaland, che lo stroma innestato insieme al tessuto canceroso va incontro a rapida distruzione, mentre lo stroma del nuovo tumore è dato dal tessuto connettivo dell'ospite.

Una seconda ipotesi, che ha incontrato favore sebbene, più che una vera spiegazione, rappresenti uno spostamento del problema, ricorre ad una particolare azione irritante che sarebbe esercitata dalle cellule cancerigne sugli elementi dello stroma e che indurrebbe in questi una proliferazione atipica, quando concorrano speciali condizioni predisponenti individuali. In favore di questa interpretazione stanno i fatti ben noti di reazione a tipo infiammatorio nel connettivo al limite di certi cancri, le proliferazioni atipiche dell'epidermide in prossimità di tumori maligni di origine connettivale svoltisi nel derma, talvolta tanto intense, come in un caso descritto da Monti (12), da giustificare la diagnosi di tumori misti, le neoformazioni polipose della mucosa vescicale in corrispondenza di piccoli nodi metastatici di cancri della prostata (Hansemann (13), Savor ((14), ecc.

Un argomento importante in questo senso si potrebbe pure dedurre dalle ricerche di Sticker (15), il quale ha di recente annunciato di essere riuscito a produrre un cancro della mammella nel cane inoculando una neoplasia da lui ritenuta come un vero sarcoma; su questi risultati però è doveroso il riserbo fino a che non avranno ottenuta conferma.

Anche l'idea di possibili differenze nella predisposizione individuale ad una forma di reazione piuttosto che ad un'altra di fronte ad un identico stimolo non corrisponde a pure vedute dottrinali, ma trova appoggio in qualche osservazione di fatti; Lewin, per esempio, ha rilevato che i ratti reagiscono all'iniezione di aleuronato, non con un processo suppurativo, come la maggior parte degli animali, ma colla formazione di un vero granuloma.

Una terza spiegazione è stata proposta da Orthner (16); le cellule dello stroma, egli osserva, durante i primi trapianti, quando gli elementi cancerosi si sviluppano rigogliosamente, vengono a trovarsi in uno stato di deficiente nutrizione, perchè le cellule cancerose attirano a sè la maggior parte dei materiali nutritizi disponibili; ma, quando la neoformazione cancerosa tende ad esaurirsi, riescono a prendere il sopravvento, l'equilibrio nutritizio si sposta a loro favore e così si rende possibile la proliferazione sarcomatosa. Questa spiegazione ha in suo appoggio il fatto, confermato anche da recenti ricerche, che lo sviluppo del sarcoma avviene solo in cancri, che abbiano raggiunto un notevole sviluppo, ed in ceppi in cui la virulenza, misurata dalla percentuale dei risultati positivi nei tra-

pianti, è in diminuzione: non soddisfa però la supposizione che un semplice aumento della disponibilità del materiale nutritizio possa provocare la trasformazione di un connettivo in sarcoma.

Ho lasciata per ultimo l'ipotesi parassitaria perchè la tendenza moderna è decisamente contraria al concetto, che ha pure avuto in un recente passato tanti autorevoli sostenitori, che la causa dei tumori maligni, in genere, e dei tumori trasmissibili degli animali, in ispecie, si possa riferire ad agenti patogeni estranei all'organismo, è giusto notare però che, ammesso un virus come causa determinante la trasformazione blastomatosa degli elementi, l'apparire di tessuto sarcomatoso dentro un cancro si spiegherebbe facilmente con una diffusione del virus dagli elementi cancerosi allo stroma.

Fino a questo punto abbiamo considerato come cosa accertata che, quando avviene la trasformazione di un cancro in sarcoma, l'origine del tessuto sarcomatoso sia da ricercarsi in una particolare mutazione dello stroma connettivale del tumore, senza mettere in discussione la possibilità della diretta trasformazione degli elementi cancerosi in elementi sarcomatosi. Questa supposizione, che urta contro le opinioni ora quasi generalmente accettate sulla metaplasia, che riconoscono possibile la trasformazione di una specie cellulare in un'altra solo quando si tratta di elementi legati da stretta parentela embriologica, non meriterebbe di essere discussa se non esistesse in proposito una osservazione di Apolant, alla quale non si può *a priori* negare ogni valore.

Apolant (17) ha di recente presentato alla Società tedesca di Patologia dei preparati di un carcinoma del topo che, dopo essere stato riprodotto per cinque anni senza variazioni, ha presentato una modificazione consistente nella progressiva diminuzione, fino alla quasi completa scomparsa, dello stroma ed in un cambiamento di forma delle cellule del parenchima, che da rotondeggianti a poco a poco sono diventate fusiformi, senza che per spiegare il fenomeno si potesse invocare l'intervento di un fattore meccanico. Apolant si domanda se questi dati siano sufficienti per far pensare ad una trasformazione vera del cancro in sarcoma, ma lascia la risposta in sospenso. Un fenomeno simile è stato osservato e riprodotto in alcune figure da Haaland (10); questo autore però crede di poter escludere in modo assoluto che, tanto nel suo caso come in quello di Apolant, si tratti di trasformazione diretta del cancro in sarcoma, per quanto sugge-

stive in questo senso siano le immagini offerte da alcuni preparati. Non è forse fuor di luogo ricordare a questo punto che Hanse-
mann (18) ancora persiste a sostenere che i tumori dei topi del tipo
Jensen, dai più considerati come adeno-carcinomi o carcinomi puri
della mammella, siano invece di origine endoteliale. Questa dottrina
di Hansemann, certamente non accettabile in generale, potrebbe cor-
rispondere al vero in qualche caso speciale ed offrire una via per
giungere alla spiegazione dei fatti osservati dall'Apolant e da Haa-
land senza urtare contro il concetto della netta distinzione fra le
specie cellulari, che è il portato degli studi istologici ed embriolo-
gici moderni.

I tumori misti sperimentalmente ottenuti diedero occasione ad
una serie di esperienze interessanti; Haaland (19) per primo, lavo-
rando sui tumori misti di Ehrlich a tipo di cancro-sarcomatode, col
riscaldamento a 44 gradi del materiale prima dell'innesto riuscì ad
isolare il sarcoma, dimostrando così che gli elementi di questo pre-
sentano una maggior resistenza al calore in confronto degli ele-
menti del cancro. Bashford, Murray ed Haaland (5) ottennero l'at-
tecchimento del solo sarcoma inoculando il tumore misto in animali
immuni contro il cancro ed un acceleramento del processo di depu-
razione, che, si verifica anche spontaneamente e per il quale i tumori
misti in successive generazioni tendono a trasformarsi in sarcomi
puri, col passaggio attraverso animali preparati coll'iniezione di emul-
sione di mammella normale.

Ehrlich (20) in un caso innestando materiale di tumore misto
sottoposto al riscaldamento ottenne un tumore costituito da due nodi
ben distinti, uno di puro sarcoma e l'altro di puro cancro, netta-
mente separati da un sottile trabecola di connettivo. Per spiegare
il risultato singolare l'A. ricorre ad un esempio tratto dalla bacte-
riologia. Quando noi vogliamo separare, egli dice, le diverse forme
di germi tra loro mescolati prepariamo delle diluzioni della miscela
che opportunamente disposte in vasi a larga superficie offrono ai
singoli individui l'opportunità di svilupparsi isolatamente. Lo stesso
effetto si ottiene nel caso dei tumori misti col riscaldamento, perchè
la maggior parte degli elementi perdono la loro vitalità ed ai pochi
superstiti è così data la possibilità di svilupparsi isolatamente.

Di un interesse grandissimo dal punto di vista dottrinale, in
quanto rappresentano dei veri fatti di metaplasia prodotti in con-
dizioni sperimentali note, sono le modificazioni di struttura che si

possono sperimentalmente provocare nei tumori trasmissibili dei topi sia agendo sul materiale prima dell'inoculazione, sia inducendo particolari modificazioni biologiche nell'animale destinato a ricevere l'innesto.

Mi limiterò a citare due esempi tipici: Haaland (19) riscaldando del materiale di un tumore del topo a 44 gradi per un'ora è riuscito ad ottenere da un sarcoma a cellule fusate un sarcoma a cellule polimorfe ricco di elementi giganti polinucleati e poté convincersi che questi erano in realtà elementi del tumore, escludendo il dubbio che si trattasse di cellule giganti da corpi stranieri eventualmente formatesi attorno a qualche particella di tessuto necrotico dentro il tumore.

Apolant (21), inoculando in topi parzialmente immunizzati con iniezioni di tumori avirulenti o di siero di topo, dei tumori del tipo di vero cancro, vide riprodursi dei nodi a struttura di adenocarcinoma alveolare. L'importanza del fatto è evidente da diversi punti di vista: perchè dimostra una relazione fra la forma assunta dal tumore e le condizioni biologiche dell'organismo, perchè conferma la stretta parentela fra adenoma e cancro, già dimostrata del resto dalla trasformazione inversa, da adenocarcinoma a cancro vero, che avviene spesso per ripetuti trapianti da animale ad animale, perchè infine dimostra la reversibilità delle modificazioni anaplastiche negli elementi dei tumori. All'importanza dei risultati di Apolant dal nostro punto di vista nulla tolgono le obiezioni sollevate da Orth e da Hansemann, giacchè queste si riferiscono solo alla questione se sia giustificato il trarre dal tipo anatomico del tumore delle deduzioni sul grado di malignità e, più precisamente, se si possa ammettere che la malignità aumenti grado a grado parallelamente al graduale passaggio di un tumore dal tipo adenomatoso al tipo schiettamente canceroso.

Questi risultati dello studio sperimentale dei tumori degli animali trovano qualche riscontro anche nella patologia umana, così la trasformazione sarcomatosa dello stroma nel cancro del topo si può considerare come la riproduzione sperimentale del processo, col quale si forma il cancro sarcomatode quando, come nei casi di Schmidt, di Lippman, di Gebbardt, di Nebeski (22), per argomenti anatomicopatologici e clinici, si deve ammettere che la formazione sarcomatosa è secondaria allo sviluppo del cancro; così le modificazioni

nella struttura e nell'architettura dei tumori in seguito alle modificate condizioni biologiche dell'organismo che li porta, aprono nuovi orizzonti nell'interpretazione dei casi, pur tanto frequenti, in cui un tumore benigno, dopo essersi mantenuto come tale per molti anni, ad un tratto dà luogo ad una neoplasia maligna (cancro della tiroide da gozzo, sarcomi da verruche, da nei, ecc.).

Se ora, con uno sguardo d'insieme, vogliamo mettere in rilievo i risultati più importanti conseguiti nel vasto campo di ricerche che abbiamo rapidamente trascorso possiamo fissare questi punti:

I. — È sperimentalmente dimostrato per il topo che il tessuto connettivo costituente lo stroma di un tumore epiteliale maligno (adeno-carcinoma, cancro) può, per cause indeterminate, assumere i caratteri morfologici di vero sarcoma e sopraffare la neoplasia epiteliale dando luogo così alla trasformazione indiretta del cancro in sarcoma.

II. — Nel cancro e nel sarcoma del topo si possono provocare sperimentalmente sensibili e ben definite modificazioni nella struttura e nella disposizione architettonica degli elementi, sia agendo con diversi mezzi fisici sugli elementi prima dell'innesto, sia modificando le condizioni biologiche dell'animale, che porta il tumore.

II.

Stabilita in modo sicuro la possibilità della trasmissione di tumori maligni da animale ad animale, si apriva un vasto campo di ricerche per definire ne' suoi particolari istologici il processo, pel quale da un frammento di tessuto neoplastico innestato si sviluppa un nuovo tumore.

A questo scopo mirano le ricerche di Jensen (23), di Loeb (3), di Bashford, Murray e Cramer (24), di Ehrlich, di Apolant (2), di Haaland (10), sulle fasi iniziali dello sviluppo degli innesti di tumori nei topi e nei ratti, ricerche che, se hanno condotto ad un accordo quasi completo sulle questioni di fatto, rivelandoci con tutta la precisione desiderabile, la serie delle modificazioni morfologiche, a cui vanno incontro le cellule innestate e gli elementi del tessuto che riceve l'innesto, non sono per altro riusciti a chiarire l'intimo meccanismo biologico dei fenomeni.

Il problema fondamentale si concreta nella domanda se gli elementi del nuovo tumore derivano da moltiplicazione degli elementi innestati o da una trasformazione degli elementi dell'ospite; quando poi si tratta di tumori a tipo organoide, nei quali si distingue un parenchima ed uno stroma di tessuto connettivo con vasi, il problema si complica e sorge la questione se lo stroma connettivo-vascolare derivi dallo stroma dell'innesto, oppure se questo si riassorba e venga sostituito da un nuovo stroma derivato dal connettivo e dai vasi dell'ospite.

Ad Jensen spetta il merito di avere per il primo studiato in modo sistematico le fasi iniziali del processo di sviluppo degli innesti nel cancro del topo; egli osservò che degli elementi epiteliali innestati una grande parte cadono in necrosi, ma alcuni, specialmente verso la periferia, resistono, cominciano a proliferare e costituiscono il primo nucleo del nuovo tumore senza che a questa formazione menomamente partecipino i tessuti dell'ospite. Il connettivo dello stroma invece va incontro a processi regressivi del tipo della degenerazione ialina, mentre nel connettivo dell'ospite in contatto coll'innesto si ha una attiva proliferazione con produzione di giovani fibroblasti e di capillari, che penetrano nel pezzo innestato, si sostituiscono allo stroma caduto in necrobiosi e forniscono poi lo stroma del nuovo tumore. Jensen ha veduto chiaramente iniziarsi la sostituzione; con lodevole prudenza, però, non ha affermato che la sostituzione dovesse essere sempre completa, non permettendogli i suoi reperti di escludere in modo assoluto che qualcuno degli elementi del vecchio stroma persistesse e prendesse parte alla formazione dello stroma nuovo.

Queste conclusioni furono confermate nelle linee generali dagli studi successivi su diversi tumori del topo e del ratto, così che si può ormai ritenere accertato che, quando si riproduce un tumore per innesto, gli elementi del parenchima derivano da proliferazione degli elementi innestati, mentre lo stroma, che pure ha caratteri costanti nelle generazioni successive di uno stesso tumore e diversi nei diversi tumori, si forma per una reazione specifica dei tessuti dell'ospite.

Fatti analoghi è generalmente ammesso che avvengano nelle metastasi dei carcinomi, anche quì il parenchima del nodo secondario deriva dagli elementi trapiantati della neoplasia primitiva, mentre

lo stroma ed i vasi sono forniti dai tessuti della località, nella quale la metastasi si forma. Anche dal punto di vista istogenetico, adunque, la riproduzione dei tumori per innesto corrisponde alla formazione della metastasi spontanea, mentre, giova ripeterlo, non ha alcun rapporto col processo di formazione dei tumori primitivi dai tessuti sani, processo che fino ad ora in nessun modo è stato possibile di riprodurre sperimentalmente.

I risultati dello studio istologico dei primi stadii di sviluppo dei cancri trasmissibili dei topi costituiscono la prova più seria che queste neoplasie sono veri blastomi ed i migliori argomenti per escludere il dubbio, del resto per molte ragioni ben poco verosimile, che possa trattarsi di particolari forme di origine infettiva simili ai granulomi.

Bashford (25) ha studiato con cura i primi stadii di sviluppo di una forma ben nota di malattia dei genitali del cane che ora generalmente va sotto il nome di sarcoma di Sticker. La malattia è caratterizzata da grosse masse neoplastiche, che nei casi spontanei si localizzano sotto la mucosa della vagina e del pene; si trasmette naturalmente per contatto: la trasmissione sperimentale per innesto riesce facilmente in cani di qualunque razza e, secondo Sticker, anche in qualche altro animale, per es. nella volpe.

I neoplasmi sono costituiti da elementi rotondeggianti, a nucleo grosso, vescicolare, con numerose cariocinesi, hanno anatomicamente tutti i caratteri di sarcomi a cellule rotonde, qualche volta danno metastasi negli organi interni. Le osservazioni di Bashford sui primi stadii di sviluppo degli innesti di questa neoplasia nei cani hanno messo in evidenza delle differenze di comportamento importanti in confronto dei carcinomi dei topi. I nuovi tumori si formano qui non esclusivamente per moltiplicazione degli elementi del pezzo innestato, ma, almeno in parte, anche per apposizione di elementi del connettivo dell'ospite che in prossimità dell'innesto gradatamente si modificano assumendo caratteri simili a quelli delle cellule del tumore e finiscono col confondersi con essi. La questione è stata recentemente ripresa dal Wade (26), il quale ha studiato lo sviluppo degli innesti del tumore di Sticker da sei ore fino a parecchi giorni dopo l'inoculazione, arrivando alla conclusione che le cellule introdotte coll'innesto cadono in necrosi e che gli elementi del nuovo tumore vengono forniti dall'ospite e precisamente dai fibroblasti e dalle cel-

lule endoteliali, che subiscono una serie di particolari modificazioni di forma. Anch'io ho avuto occasione di ripetere in parte le esperienze di Bashford e di Wade ed ho potuto convincermi che le figure di Bashford in particolare corrispondono a quanto si può facilmente vedere nei preparati.

Noi abbiamo adunque in queste ricerche istogenetiche un valido argomento per ritenere che il così detto tumore di Sticker dei genitali del cane, malgrado la sua struttura schiettamente sarcomatosa, il decorso e la capacità di dare metastasi, non sia da considerarsi come un vero blastoma, ma piuttosto come una forma di granuloma di probabile origine infettiva fino ad ora ignota. E questo giudizio trova conferma nel fatto della facile trasmissibilità per contatto, che non si ha mai nei tumori, e nella possibilità della riproduzione per innesto, non solo in cani di razza molto diversa, ma anche in animali di altra specie, mentre dalle esperienze sui tumori dei topi risulta la decisa influenza in senso negativo che sull'attecchimento degli innesti esercitano le differenze, anche minime, di razza.

Nel riassumere la serie degli studi sulle fasi iniziali dello sviluppo degli innesti di tumori non debbono essere trascurate le ricerche di Ehrlich (27) su un encondroma maligno del topo da lui trovato: questo tumore presenta come nota caratteristica una spiccata tendenza alle emorragie, così che anche i nodi assai giovani appaiono per i versamenti di sangue che in essi si producono di colore bluastro o nero. Ehrlich ritiene che questo modo di comportarsi del condroma, a differenza dei carcinomi e sarcomi, dipenda dalla proprietà che i suoi elementi possederebbero di esercitare un'intensa azione chemiotattica sugli angioblasti, così che il tessuto dell'ospite verrebbe stimolato a fornire al nodo neoplastico in via di sviluppo uno stroma ricchissimo di vasi relativamente ampi, a pareti sottili, e quindi facilmente soggetti a rompersi. Da queste osservazioni risulta, anche per il condroma, la prova evidente che lo stroma è fornito dal tessuto dell'ospite e che nel determinare i particolari caratteri dello stroma stesso hanno parte specifiche influenze partenti dagli elementi del parenchima del tumore; influenze che, in via di ipotesi, si possono supporre legate a speciali sostanze emesse dalle cellule neoplastiche, il che permette di ravvicinare il fenomeno a quelli noti nel campo della batteriologia come fatti di chemiotassi.

Di tutti i fenomeni che si svolgono nei tumori trasmissibili e che si possono sottoporre al controllo dell'analisi istologica nelle loro fasi iniziali, il più interessante è quello della trasformazione sarcomatosa dello stroma che, come abbiamo veduto, si è parecchie volte verificato in diversi ceppi di carcinoma del topo. Qui siamo propriamente nel cuore del problema: infatti la trasformazione di un connettivo a caratteri pressochè normali e, come i tessuti normali, non suscettibile di svilupparsi indefinitamente quando venga trapiantato in altri animali, in un tessuto morfologicamente identico a quello dei sarcomi e, come questi, dotato di capacità proliferativa indefinita e suscettibile di essere trasmesso per innesto da animale ad animale, è un fenomeno esattamente raffrontabile a quello, per cui un gruppo di elementi di un organismo normale, sottraendosi alle forze regolatrici che mantengono l'equilibrio fra le individualità cellulari componenti la colonia organica, acquistano ad un tratto quella capacità di rapida e disordinata proliferazione e quelle facoltà aggressive sugli elementi vicini, che caratterizzano gli elementi dei tumori maligni. In altre parole la trasformazione sarcomatosa dello stroma dei cancri del topo e la formazione primitiva di un tumore maligno dal tessuto normale sono fatti analoghi da un punto di vista generale, si comprende quindi di quanto interesse sia l'assistere allo svolgersi di questo processo, quando anche si possa sperare solo di rilevare le esterne caratteristiche morfologiche del fenomeno senza penetrare la natura delle forze che entrano in giuoco per produrlo, nè determinarne l'intimo meccanismo di azione.

Disgraziatamente il fenomeno non si può produrre sperimentalmente a volontà, le condizioni che lo determinano sono quasi del tutto ignote, bisogna quindi sorprenderlo quando si manifesta spontaneamente, così che lo studio delle sue fasi iniziali, delle modificazioni presarcomatose dello stroma, presenta difficoltà pratiche gravissime, che si possono affrontare solo da chi possenga un ricco materiale e disponga di una perfetta organizzazione di lavoro. Questa ardua impresa è stata tentata con successo da Haaland (10) che ha raccolto i risultati delle sue ricerche in un lungo rapporto interessantissimo, del quale io sono dolente di dovermi limitare a riferire le conclusioni.

Haaland, possedendo una serie di tumori rappresentanti tutte le generazioni successive di un ceppo di cancro del topo, nel quale

ad un dato momento è avvenuta la trasformazione sarcomatosa dello stroma, ha potuto seguire passo a passo le modificazioni istologiche dello stroma nelle generazioni precedenti l'apparizione del sarcoma, nel momento in cui la trasformazione avviene e dopo che si è prodotta; ed ecco le conclusioni più importanti alle quali è pervenuto:

Prima dell'apparizione del sarcoma si osserva uno stadio ben definito, nel quale lo stroma diventa più abbondante e più ricco di cellule coi caratteri di fibroblasti giovani. Seguendo le prime fasi dello sviluppo di innesti del tumore in questo stadio presarcomatoso, con stroma abbondante e ricco di cellule, si nota che lo stroma non degenera in totalità, come di regola, ma che almeno alcuni elementi si mantengono in vita, proliferano e prendono parte alla formazione dello stroma del nuovo tumore. Il fatto primitivo che caratterizza l'inizio della trasformazione sarcomatosa è quindi una modificazione biologica di alcune cellule connettive che, prima ancora di assumere i caratteri morfologici degli elementi sarcomatosi, acquistano la proprietà di resistere al trapianto in un altro animale e di attecchire nel nuovo ambiente continuando a proliferare indefinitamente.

Questa fase presarcomatosa, caratterizzata da una modificazione delle proprietà vitali di alcune cellule dello stroma senza variazione della forma, può durare per un tempo abbastanza lungo; solo dopo parecchie generazioni sopravvengono i cambiamenti morfologici che rivelano l'apparizione del sarcoma.

Quando la trasformazione è compiuta, il tessuto sarcomatoso che ne risulta, isolato dal cancro, trapiantato e studiato nei primi stadii dello sviluppo, si comporta come un vero tumore maligno; i nuovi tumori si formano esclusivamente dalla proliferazione degli elementi innestati, il tessuto dell'ospite fornisce solo i vasi e il tessuto di sostegno; si hanno metastasi in tutti gli stadii, specialmente nel polmone, ed anche le metastasi seguono le stesse leggi di sviluppo. Cadono quindi le obbiezioni di Orth; per spiegare la trasformazione dello stroma non si può più pensare a processi infettivi, nè alla formazione di un tessuto di granulazione attorno agli alveoli cancerosi, ma bisogna riconoscere che siamo di fronte all'insorgenza di una vera neoplasia maligna.

Riguardo alle cause della trasformazione sarcomatosa dello stroma anche Haaland ben poco ha potuto scoprire di preciso: pare che avvenga più di frequente in periodi nei quali l'energia di svi-

luppo del cancro è in diminuzione, in ceppi nei quali di frequente si verifica il riassorbimento spontaneo del tumore; dati vaghi che accennano alla possibilità di un rapporto fra lo sviluppo del sarcoma ed il riassorbimento di prodotti di regressione degli elementi cancerosi.

Ho ripetutamente insistito sull'importanza di questi fatti per l'interpretazione della patogenesi dei tumori spontanei, ma il loro significato appare ancor maggiore, se noi li consideriamo da un punto di vista più elevato, cercando di misurare, per via di confronti, la loro portata nel campo della biologia generale.

Noi assistiamo quì all'apparire improvviso per cause ignote di una generazione di elementi diversi per caratteri biologici e morfologici dai progenitori e capaci di trasmettere i loro nuovi caratteri ereditariamente per una serie indefinita di generazioni.

Ora, se consideriamo le singole cellule di un tessuto come individui di una specie, facendo astrazione per un momento dai rapporti che li legano fra loro come membri di una colonia organica, appare evidente la corrispondenza coi fenomeni di mutazione delle specie; mutazione infatti, nel senso di de Vries, non è che l'apparire improvviso in una specie pura di individui con caratteri fondamentali biologici e morfologici diversi da quelli della specie e capaci di riprodursi generando una discendenza dotata dei nuovi caratteri.

È stato osservato che la trasformazione in sarcoma si ripete in alcuni ceppi di cancro in diversi tumori della stessa generazione o di un gruppo di generazioni successive, mentre altri ceppi si riproducono invariati per lunghissimo tempo di generazione in generazione, ebbene, come non correre col pensiero alle specie mutanti, ai periodi di mutabilità che de Vries ha teoricamente ammesso come episodii nella vita delle specie e di cui anche ha potuto osservare e studiare qualche esempio in atto nelle piante?

Se poi apparisse troppo ardito il ravvicinamento fra gli individui indipendenti di una specie e gli elementi di un tessuto, potremmo trovare un termine di confronto anche più preciso nei fatti di mutazione parziale delle piante, in quei fenomeni per cui in un organismo vegetale appare ad un tratto una singola gemma con caratteri aberranti da quelli della specie e trasmissibili per eredità. Raffronti forse troppo arditi, si dirà, e di scarso valore pratico, perchè finora solo qualche timido tentativo è stato fatto per portare

la questione delle mutazioni nel campo sperimentale, ma il problema della genesi dei tumori è così oscuro da giustificare un ravvicinamento dal quale pur potrebbe derivare qualche barlume di luce.

Riassumendo, dalle ricerche sugli stadii iniziali dello sviluppo dei tumori trasmessi per innesto risulta:

1° che il parenchima dei tumori veri si forma per proliferazione degli elementi innestati, mentre lo stroma degenera, viene riassorbito e sostituito da un nuovo stroma proveniente dal connettivo e dai vasi dell'ospite;

2° che la natura del tumore ha una influenza specifica nel determinare i caratteri del nuovo stroma;

3° che la trasformazione sarcomatosa dello stroma di alcuni tumori trasmissibili del topo non è dovuta alla preesistenza di tessuto sarcomatoso sfuggito all'osservazione nel tumore primitivo, nè all'intervento di agenti parassitari od irritanti estranei, ma ad una particolare modificazione biologica, da causa ignota, delle cellule dello stroma, per cui esse acquistano dapprima la capacità di sopravvivere al trapianto in altro animale, seguitando a proliferare indefinitamente, ed in seguito mutano la loro forma assumendo i caratteri di elementi sarcomatosi.

III.

Dalla storia delle ricerche sulla patogenesi dei tumori risulta che in ogni tempo si è tentato di riprodurre sperimentalmente negli animali delle formazioni patologiche simili ai tumori con mezzi diversi, ispirati dalle diverse idee dottrinali, che successivamente hanno tenuto il campo. Così, sotto l'influenza delle dottrine di Cohnheim, abbiamo una lunga serie di tentativi di riproduzione di tumori per mezzo di innesti di elementi o di tessuti a diversi stadii dello sviluppo, così le più svariate azioni fisiche, chimiche e meccaniche furono sperimentate sui diversi organi, quando parve prevalere l'idea che i tumori maligni dovessero essere messi in rapporto con fatti di irritazione cronica dei tessuti, così quasi infinita è la serie dei tentativi con agenti parassitari e coi loro prodotti tossici da parte di quelli che hanno creduto all'origine parassitaria dei tumori. In quest'ultimo indirizzo, anzi, assistiamo ora, e precisamente in Italia,

ad un movimento importante suscitato dalle ultime ricerche di Sanfelice sui saccaromiceti.

Questa lunga serie di indagini, che ha ormai una storia quasi secolare e che fra tutte le ricerche sui tumori comprende quelle, che più direttamente si appuntano al nodo centrale del problema, ha avuto, è ben noto, un risultato negativo.

Lasciando pel momento in sospeso ogni apprezzamento sui risultati di Sanfelice, dei quali mi riservo di parlare appresso, ben si può affermare che nessuno fino ad oggi è riuscito a produrre sperimentalmente una formazione avente i caratteri di tumore maligno, nessuno è riuscito a dominare con mezzi sperimentali le forze che regolano lo sviluppo degli elementi, dei tessuti e degli organi ed a provocare in esse quelle perturbazioni, che rappresentano essenzialmente la condizione determinante dello sviluppo dei tumori.

Questo giudizio sull'esito negativo dei tentativi di riproduzione sperimentale dei tumori maligni non esclude però l'opportunità di ricordare una serie di tentativi in questo campo, svoltisi nell'ultimo biennio, perchè si tratta di esperienze, che hanno per sè stesse, indipendentemente dal problema generale al quale si riferiscono, un valore ed un interesse notevole.

Mi riferisco alle esperienze iniziate da Fischer, ripetute e continuate dopo di lui da una serie non breve di autori.

Fischer (28) ha osservato che, se si inietta una soluzione di Scharlach Roth in olio di ulive sotto l'epidermide dell'orecchio del coniglio, si ottiene, dopo alcuni giorni, un'attiva proliferazione degli elementi dell'epidermide stessa e sue derivazioni, che dà luogo alla formazione di zaffi, che si approfondano nel connettivo sottocutaneo fino alla cartilagine, assumendo proporzioni cospicue, e che si possono in seguito distaccare dal tessuto d'origine, costituendo delle isole indipendenti in seno al connettivo.

Lo studio citologico di queste neoformazioni ha messo in evidenza un notevole distacco dal tipo di struttura dell'epidermide normale, così che esse per i caratteri morfologici si possono ravvicinare ai cancri della cute; solo dal punto di vista morfologico, però, perchè manca loro la proprietà essenziale dei tumori maligni, in quanto hanno uno sviluppo limitato e regrediscono fino a scomparire appena, col riassorbimento dell'olio, viene a mancare lo stimolo che le ha prodotte.

Le sperienze di Fischer furono ripetute con modificazioni non essenziali da Jores (29), Stahr (30), Snow (31), Helmholtz (32), Isaac Lewin (33), Stoeber (34), Schreiber e Wengler (35), Fiorito (36).

Oltre allo Scharlach Roth furono usati con risultati analoghi altre sostanze di costituzione chimica poco diversa, come il Sudan III, l'Indo-fenolo, ecc.; le esperienze furono estese a diversi organi, la mucosa della bocca, dello stomaco, dell'intestino, della vescica, la cornea, la camera anteriore dell'occhio, la ghiandola mammaria, come solvente all'olio fu sostituita con esito positivo la paraffina molle.

Stoeber, basandosi sulla osservazione che gli operai che nelle fabbriche di colori di anilina maneggiano per molto tempo sostanze del gruppo degli amido derivati del benzolo e della naftalina e specialmente i lavoratori della fucsina, che si prepara dall'anilina ed orto - e paratoluidina, vanno spesso soggetti a cistiti croniche e talvolta a veri cancri vescicali e rilevando d'altra parte che nelle sostanze coloranti dei grassi usate da Fischer figurano quelle basi aromatiche, nella lavorazione delle quali si hanno più di frequente le alterazioni della vescica, ha pensato di sperimentare l'azione di alcune di queste basi aromatiche iniettandole in soluzione oleosa sotto l'epidermide. Ottenne infatti intense proliferazioni atipiche colla iniezione d'olio saturato di naftilamina, sperimentò anche l'amido-azo-benzolo, l'amido-azo-toluolo e la paratoluidina, ma con risultati meno buoni per l'intensa azione tossica generale e necrotizzante locale di queste sostanze. Le iniezioni nella mucosa vescicale del coniglio non diedero buoni risultati: malgrado ciò le esperienze di Stoeber conservano il loro valore, poichè è ovvio comprendere l'impossibilità di riprodurre sperimentalmente le condizioni di assorbimento lentissimo e prolungato, che si verifica nella intossicazione professionale dei lavoratori nelle fabbriche di colori di anilina.

Schreiber e Wengler iniettando soluzione oleosa di Scharlach Roth nella camera anteriore dell'occhio del coniglio, ottennero, non solo forte ipertrofia delle cellule nervose della retina fino a raggiungere delle dimensioni gigantesche, ma anche fatti di mitosi con completa divisione delle stesse cellule nervose. Se questi risultati saranno confermati e se sarà dimostrato che gli autori ebbero veramente sott'occhio degli elementi nervosi in fasi avanzate del processo di mitosi, sarà opportuno estendere le esperienze ad altre parti

del sistema nervoso: il fatto per la sua singolarità merita bene uno studio approfondito!

Fiorito ha ottenuto col Sudan III e lo Scharlach Roth bellissime proliferazioni atipiche dell'epidermide dell'orecchio nel coniglio ed ha seguito passo a passo le successive fasi evolutive ed involutive delle masse di epitelio neoformato, fino alla loro scomparsa, notando anche le modificazioni reattive del connettivo circostante. Proliferazioni intense ha ottenuto iniettando le stesse sostanze nello spessore della mucosa dello stomaco del ratto nella porzione ad epitelio pavimentoso: con iniezioni nello spessore della cornea del coniglio ha potuto assistere alla formazione di lunghi zaffi di epitelio decisamente atipico per la forma e la grandezza degli elementi, che dalla superficie libera, insinuandosi lungo il percorso dell'ago, circondava come un manicotto i residui del materiale iniettato: finalmente coll'iniezione nello spessore della mucosa vescicale nel coniglio e nel topo in alcuni casi, in cui il materiale aveva preso la via dei linfatici, verificò un'abbondante proliferazione degli elementi endoteliali di questi vasi.

Fra i risultati di Fiorito meritano di essere posti in rilievo quelli sullo stomaco del topo nella regione del cardias e sulla cornea, perchè, portando l'esperienza in organi che hanno struttura simile a quella della cute, ma mancano di follicoli piliferi e di ghiandole, si è dimostrato che anche l'epitelio di rivestimento può dar luogo a proliferazioni atipiche, mentre esisteva la tendenza ad ammettere che le neoformazioni alla Fischer avessero origine di preferenza dallo strato germinativo dell'epitelio dei follicoli piliferi e delle ghiandole sebacee. Interessante è inoltre il fatto delle proliferazioni dell'endotelio dei vasi linfatici, perchè dimostra più chiaramente di quel che risultasse dalle esperienze precedenti di Lewin sul connettivo e di Helmholtz sulla cartilagine, che anche elementi di natura connettivale possono rispondere allo stimolo esercitato dalla soluzione oleosa di Scharlach Roth in modo simile agli elementi epiteliali.

Sull'interpretazione dei risultati di queste esperienze non mancarono le discussioni: Fischer, pur riconoscendo che le proliferazioni da lui ottenute differiscono per alcuni caratteri fondamentali dai tumori maligni, formulò sulla loro genesi una dottrina, che, a suo avviso, si può, entro certi limiti, applicare anche all'istogenesi dei tumori ed in particolare dei cancri cutanei. Egli sostiene che la so-

luzione oleosa di Scharlach Roth o di Sudan III esercita sugli elementi epiteliali una attrazione paragonabile a quella che certe sostanze esercitano sui batteri e che va sotto il nome di chemiotassi; nel caso dei tumori spontanei sarebbe in giuoco una influenza simile svolta da particolari sostanze, dall'A. denominate *attrassine*, che si formerebbero, per ragioni a noi ignote, nel tessuto connettivo provocando la proliferazione e la migrazione degli elementi epiteliali vicini.

La dottrina delle *attrassine* di Fischer ha una evidente parentela colle idee ben note di Ribbert sulla genesi del cancro, anzi di quelle idee generali rappresenta una specificazione nel senso di meglio definire l'interpretazione dei rapporti fra connettivo ed epitelio proliferante, concretandola nell'azione di speciali sostanze chimiche. Comune colla dottrina di Ribbert è il concetto fondamentale, che la trasformazione di un elemento epiteliale normale in elemento canceroso non è un fatto primitivo, legato ad intime modificazioni biologiche delle cellule stesse, ma un fatto secondario, dipendente da una particolare alterazione del connettivo vicino. Secondo Fischer, perchè si formi un vero tumore, bisogna anche che le attrassine si incontrino in gruppi di cellule trovantesi già in condizioni anormali in conseguenza di anomalie di sviluppo; da questo punto di vista, quindi, la nuova dottrina si ricollega all'antica di Cohnheim.

Queste idee dottrinali hanno trovato scarso favore; la maggior parte degli autori, che hanno ripetute le esperienze di Fischer confermandone i risultati di fatto, sono poco propensi ad accettarle e tendono piuttosto ad ammettere una diretta azione irritante dell'olio colorato sopra gli elementi cellulari; anzi Jores, con apposite esperienze, si è proposto di dimostrare che coll'iniezione intradermica, come fu praticata da Fischer, la sostanza iniettata giunge a contatto degli epitelii e quindi si trova in condizione di esercitare su di essi una azione diretta.

Non insisterò sui particolari di questa discussione; quando si riflette che col termine *chemiotassi* noi esprimiamo solo il risultato visibile di un fenomeno affatto ignoto nel suo meccanismo, che la parola irritazione indica solo l'insieme delle modificazioni rilevabili, o no, coi nostri mezzi, che un elemento subisce per effetto di uno stimolo esterno ed ha quindi un significato affatto generico, è ovvio comprendere che, quando pure fosse deciso se le modifica-

zioni indotte negli epitelii col procedimento di Fischer siam meglio definibili coll'una o coll'altra parola, ciò non implicherebbe affatto un giudizio sulla essenza del fenomeno, nè un progresso nella conoscenza della sua genesi.

Prima di lasciare l'argomento delle proliferazioni atipiche sperimentalmente provocate mi sembra opportuno accennare brevemente alle esperienze di C. Lewin (37), sebbene siano state accolte in generale con molta diffidenza. Questo autore, inoculando nel peritoneo del cane del materiale, tolto dal cadavere 15 ore dopo la morte, di un carcinoma ovarico, che nel suo decorso aveva mostrato una eccezionale malignità, avendo prodotto in soli cinque giorni un grosso nodo secondario su una ferita da paracentesi, ottenne dei nodi multipli sull'omento, un tumore al punto di innesto ed ingrossamento dei ganglii linfatici. Questi nodi, inoculati in altri cani, per ben 5 generazioni, produssero costantemente delle neoformazioni nodulari in diversi organi. Quanto alla struttura, l'A. afferma che i nodi della prima generazione nulla presentavano che uscisse dai limiti di una neoformazione infiammatoria, ma che nelle generazioni successive la struttura si modificò in modo da avvicinarsi a quella di certi sarcomi: mai i nodi prodotti nei cani mostrarono caratteri istologici simili a quelli del tumore ovarico, dal quale il materiale in origine proveniva.

Escluso il dubbio che si tratti di germi comuni accidentalmente inoculati insieme col tumore umano o di una malattia preesistente nel primo cane, resta, secondo l'A., come unica spiegazione possibile, che uno stimolo affatto sconosciuto sia stato trasportato dal carcinoma umano nel primo cane e da questo negli animali successivamente inoculati. Sulla natura di questo stimolo nulla si può dire, come pure non è possibile decidere se esso fosse accidentalmente contenuto nel carcinoma dell'ovario, oppure rappresentasse la causa stessa della neoplasia cancerosa.

In argomento così arduo, senza aver veduto i preparati ed in presenza di descrizioni istologiche non certo complete, e di figure poco dimostrative, sarebbe azzardato esprimere un giudizio; io credo però che anche questi fatti, che ispirano diffidenza per la loro singolarità, debbano essere tenuti presenti, pur senza tentare di spiegarli per ora, in attesa che altri fatti si raccolgano e per via di confronti la spiegazione si renda possibile. Come un tentativo in

questo senso sono da considerare le esperienze recenti di Isaac Lewin eseguite trapiantando pezzi di ghiandola mammaria, previamente trattata con iniezioni di Scharlach Roth sciolto in paraffina, coll'intento di vedere se il tessuto della mammella, così modificato, a somiglianza del cancro ovarico di Lewin, fosse capace di suscitare qualche particolare forma di reazione a tipo neoplastico: l'esito però fu assai incerto (33).

Riassumendo, il gruppo di lavori che ha preso le mosse dalle esperienze di Fischer, se ha messo in evidenza dei fatti per sè interessanti, dimostrando che certi stimoli chimici sono capaci di provocare delle proliferazioni epiteliali per i loro caratteri morfologici somiglianti a certi cancri, non ha contribuito affatto a diradare le tenebre che avvolgono la patogenesi dei tumori maligni.

IV.

Un gruppo di ricerche che, per l'indirizzo affatto speciale, si distinguono da tutte le altre e, per l'importanza dottrinale e pratica dei risultati, meritano di essere sottoposte ad un attento esame critico sono quelle di Sanfelice. Questo autore, come è ben noto, da molti anni sostiene che nella eziologia dei tumori maligni hanno importanza diverse forme di saccaromiceti; ed a riprova della sua dottrina insiste sopra tre ordini di fatti: reperto di forme di saccaromiceti nei tumori colla osservazione microscopica diretta, isolamento dei germi in cultura pura da tumori non ulcerati, riproduzione di formazioni simili a tumori maligni coll'inoculazione delle culture negli animali da esperimento. Per molto tempo le idee di Sanfelice non incontrarono favore: alle prime due serie di ricerche, dirette a dimostrare la presenza di saccaromiceti coltivabili nei neoplasmi maligni, si obiettò la possibilità che questi germi rappresentassero una infezione secondaria od accidentale; alla terza, produzione sperimentale di tumori negli animali, che le formazioni prodotte non fossero veri tumori, ma forme di granulomi infiammatori ed in qualche caso, in cui questa spiegazione per i caratteri istologici non era accettabile, si giunse perfino a pensare a tumori veri spontaneamente prodottisi negli animali inoculati nel lungo periodo di tempo, nel quale erano sottoposti agli esperimenti.

Sanfelice però, senza lasciarsi impressionare dalla accoglienza poco favorevole, in mezzo a molte difficoltà, con mirabile costanza continuò i suoi studi sempre nello stesso indirizzo e pervenne negli ultimi anni a risultati che vivamente richiamarono l'attenzione generale (38).

Ben a ragione egli rileva nell'ultimo suo lavoro come nè le ricerche puramente istologiche sui tumori dell'uomo e degli animali, nè le esperienze sui tumori trasmissibili dei topi e dei ratti, per quanto abbiano messo in evidenza una grande copia di fatti per sè interessanti, non hanno per nulla fatto progredire le nostre conoscenze sulla eziologia dei tumori maligni; sono soltanto le ricerche nell'indirizzo della dottrina parassitaria quelle che, secondo Sanfelice, affrontano il grande problema nel punto vitale.

Ed infatti la dottrina di Sanfelice, se fosse dimostrato che corrisponde in tutte le sue parti a fatti esattamente osservati ed interpretati correttamente, ci offrirebbe della patogenesi e dell'eziologia dei tumori maligni una spiegazione chiara e completa. Ecco, in breve riassunto, questa dottrina come risulta dall'ultimo ciclo di lavori: esistono fra i saccaromiceti alcune specie capaci di adattarsi alla vita parassitaria e di esercitare azione patogena in due modi distinti: direttamente per le alterazioni che i germi colla loro presenza e colla loro moltiplicazione producono nei tessuti, nei quali si annidano, indirettamente per mezzo di particolari prodotti tossici solubili che essi elaborano. A seconda che prevale il primo od il secondo modo di azione la forma morbosa, che ne risulta, è diversa per caratteri anatomo-patologici e clinici; in via sperimentale è possibile ottenere a volontà la infezione o la intossicazione pura od almeno una decisa prevalenza dell'uno o dell'altro gruppo di manifestazioni patologiche. Se si inoculano negli animali culture giovani di saccaromiceti, i germi si moltiplicano attivamente in sito ed invadono l'organismo senza provocare notevoli reazioni da parte degli elementi cellulari e si ha il quadro di una infezione tipica, una vera blastomicosi, se invece si usano culture vecchie ed i germi si inoculano insieme col substrato nutritivo, sul quale hanno vegetato e che si è arricchito dei prodotti tossici solubili da essi elaborati, il quadro cambia: la moltiplicazione dei parassiti manca od è minima, intensa è invece la reazione degli elementi dell'organismo, che proliferano dando luogo allo sviluppo di tumori aventi tutte le note

caratteristiche delle neoplasie maligne. Le tossine blastomicetiche, oltre ad esercitare la loro particolare azione sugli elementi, coi quali vengono in contatto nel punto d'inoculazione, possono anche diffondersi nell'intero organismo ed andare a provocare delle proliferazioni atipiche in gruppi lontani di cellule, che si trovano in speciali condizioni di recettività. Le tossine blastomicetiche, legandosi alle cellule fornite di adatti gruppi ricettori, conferiscono loro le proprietà essenziali delle cellule delle neoplasie maligne, la capacità di proliferare indefinitamente, di dare metastasi per via sanguigna o linfatica, di invadere i tessuti vicini, di sopravvivere al trapianto in altri animali della stessa specie riproducendo il tumore per innesto. Quando un elemento ha fissato la tossina, questa si trasmette alle cellule figlie da esso derivate e per tal modo si trasmette, attraverso le successive generazioni di elementi, lo stimolo alla proliferazione atipica.

In conformità a questi principii la produzione dei tumori maligni spontanei si deve interpretare, secondo Sanfelice, nel modo seguente: dei blastomiceti patogeni, penetrati nell'organismo, si localizzano in un organo qualunque e vi si moltiplicano, ma in misura limitata, elaborano le loro tossine che, agendo sugli elementi del tessuto, nel quale la localizzazione blastomicetica è avvenuta, oppure su elementi di organi lontani, che posseggano per la tossina stessa un più alto grado di ricettività, provocano la proliferazione atipica degli elementi colpiti e quindi l'insorgenza di tumori rispettivamente nel punto della infezione primitiva od in altri punti dell'organismo. Intanto nel focolaio primitivo i blastomiceti presto si arrestano nel loro sviluppo e, per effetto di anticorpi specifici che l'organismo per la loro presenza è stimolato a fabbricare, vanno incontro ad una serie di modificazioni involutive, terminando col restare inattivi nel tessuto sotto forma di ammassi rotondeggianti, dotati di particolare affinità per certi colori di anilina, che sono da molto tempo stati osservati e vanno sotto il nome di corpuscoli fucsino-fili di Russel.

Anche quando il focolaio blastomicetico è spento ed i germi, degenerati in corpuscoli di Russel non rappresentano più che un detrito inerte in seno al tessuto, lo sviluppo del tumore continua, perchè la tossina, una volta formata e fissata alla cellula, rimane inalterata e si trasmette da cellula a cellula, e si formano metastasi,

giacchè gli elementi neoplastici trasportati da un punto all'altro dell'organismo portano seco nella tossina, che loro è legata, lo stimolo per l'ulteriore proliferazione.

La reazione immunitaria dell'organismo alla introduzione dei saccaromiceti e delle loro tossine si esplica colla produzione di due sorta di anticorpi specifici: una sostanza del tipo degli anticorpi batteriolitici, alla quale sono da riferirsi, come abbiamo veduto, i fatti degenerativi che i blastomiceti presentano nei tessuti in certe condizioni, riducendosi allo stato di corpi fucsino-fili; ed una antitossina capace, quando sia presente in quantità sufficiente ed il suo intervento si verifichi al momento opportuno, di neutralizzare la tossina blastomicetica. Questa antitossina è utilizzabile come mezzo terapeutico poichè, quando venga applicata in modo ed a tempo opportuno, è capace di staccare dalle cellule neoplastiche la tossina, che rappresenta per esse lo stimolo alla proliferazione atipica, spogliandole così del loro carattere di malignità e riconducendole allo stato di elementi normali.

Questo, nelle linee generali, è il concetto di Sanfelice: vediamo i fatti, sui quali è fondato. Questi si possono ripartire in tre gruppi ben distinti.

1° Reperti dimostranti la presenza di blastomiceti (vitali, degenerati o morti) nei tumori maligni dell'uomo e degli animali ottenuti coll'osservazione microscopica diretta o colle culture.

2° Esperienze di produzione sperimentale di tumori maligni negli animali coll'inoculazione dei blastomiceti vivi e morti e delle loro tossine.

3° Fatti dimostranti l'efficacia terapeutica del siero di animali trattati con iniezioni ripetute di tossina di blastomiceti.

La dimostrazione diretta di corpi endo ed extra cellulari riconoscibili per i loro caratteri morfologici come saccaromiceti, nei tumori maligni dell'uomo è riuscita solo in qualche caso e così pure, solo in casi isolati, hanno avuto risultati positivi i tentativi di culture su substrati nutritivi adatti allo sviluppo di questi germi.

Nei casi positivi poi mancano argomenti decisivi per escludere il sospetto che si trattasse di infezioni secondarie, accidentali. All'obbiezione della non costante presenza nei tumori di blastomiceti, riconoscibili con sicurezza per i caratteri morfologici e coltivabili, Sanfelice rispose ammettendo, come ho riferito, che i microorganismi

possano nei tessuti andare incontro presto a processi involutivi, assumendo l'aspetto di corpi di Russel e perdendo la capacità di riprodursi nelle culture, mentre la permanenza delle tossine da essi fabbricate nel primo periodo della loro vita parassitaria basterebbe a spiegare il progressivo sviluppo del tumore.

Formazioni classificabili come corpi di Russel si riscontrano di frequente nei tumori, come del resto in molti altri tessuti patologici, quindi, ammesso che i corpi di Russel si debbano sempre interpretare come forme involutive di blastomiceti si comprende facilmente che il numero dei risultati positivi, nelle ricerche dei blastomiceti nei tumori, debba crescere a dismisura: si può ben affermare però che la prova, che i corpi di Russel *siano sempre* di origine blastomicetica, non è stata fino ad ora raggiunta.

Ancora più grave è l'obbiezione riguardante il sospetto di una infezione secondaria accidentale: per lumeggiare la questione da questo punto di vista mi permetto di riferire come esempio il procedimento, col quale Sanfelice ha isolato da un tumore uno dei germi, dei quali si è più largamente servito nelle sue esperienze, il *Saccaromices canis II*. Da un grosso tumore a forma di cavolfiore del pene di un cane danese, egli narra, si escidono dei pezzi della grandezza di una nocciuola, che vengono inoculati nel connettivo sottocutaneo del dorso ad un cane, un gatto, ed un coniglio, previa incisione della cute, che fu poscia chiusa con sutura. Il cane ed il gatto, morti rispettivamente dopo un mese ed un mese e mezzo, nulla presentavano nè al punto di innesto, nè negli organi. Nel coniglio, morto dopo cinque giorni, si trovò il pezzo di tumore innestato circondato da un'abbondante raccolta di pus, nel quale si riscontrò al microscopio la presenza di saccaromiceti. In culture a piatto, su terreni appropriati, in mezzo a numerosissime colonie di altri microorganismi, si poterono isolare le colonie del blastomicete.

Ora come si può sentirsi sicuri nell'affermare che questo blastomicete isolato dal contenuto di un ascesso, formatosi in corrispondenza di una ferita cutanea, provenisse proprio dal tumore innestato, nell'escludere che la sua origine fosse per avventura identica a quella delle altre *numerosissime* forme microbiche presenti nello stesso pus?

È bensì vero che l'autore quasi presentando l'obbiezione, aggiunge: « siccome il tumore del cane non era ulcerato e siccome colla inoculazione del blastomicete isolato si riprodusse in un cane un tumore di struttura perfettamente simile a quello, da cui fu isolato, si deve ritenere che la sua presenza non fosse accidentale », ma, è ovvio rilevare, che la prima ragione non ha valore, dal momento che si formò attorno al pezzo innestato un ascesso con *numerosissimi microorganismi*, e la seconda non ha che un valore indiretto e ci riconduce alla questione generica dei caratteri istologici distintivi fra granulomi da saccaromiceti e veri tumori, questione di cui vedremo tra poco le gravi difficoltà.

Il secondo gruppo, tentativi di riproduzione sperimentale dei tumori, comprende la parte più importante dei lavori di Sanfelice nell'ultimo periodo. Le esperienze furono eseguite nei cani, ratti e topi, di rado nel coniglio e nel gatto; furono usate diverse specie di blastomiceti patogeni, che non mostrarono però rilevanti differenze di comportamento; culture di differenti età e sui terreni più svariati di origine animale e vegetale, solidi e liquidi; nella maggior parte dei casi l'inoculazione endoaddominale fu la preferita, qualche volta fu usata la via delle vene e l'introduzione diretta nel parenchima di organi ghiandolari.

Per studiare gli effetti dei germi nel pieno rigoglio della loro vita, in confronto con quelli prodotti dai germi attenuati o morti, l'autore usò culture giovani e culture vecchie su diversi substrati; e per determinare l'azione delle tossine, avendo osservato che, nè la filtrazione colla candela, nè i comuni metodi in uso per uccidere le culture dei batteri rispondevano allo scopo, poichè anche la tossina subiva più o meno gravi alterazioni, ricorse all'espedito di lasciar estinguere la vita dei germi per esaurimento del materiale nutritizio, abbandonando a sè le culture, per lungo tempo, in tubi chiusi alla lampada. Dopo alcuni mesi, se venivano mantenute alla stufa, dopo un anno se alla temperatura ambiente, le culture erano morte, e se ne aveva la prova nel risultato negativo dei trapianti eseguiti con materiale abbondante su terreno fresco, mentre il substrato aveva assorbito una grande quantità di tossina. Le esperienze sono descritte in modo molto particolareggiato, malgrado ciò però in molti casi, non risulta con precisione quale sia stato il materiale impiegato e soprattutto se-

esso, quantunque proveniente da culture molto vecchie, contenesse ancora dei germi vivi o proprio solo tossine, se si trattasse di materiale liquido, oppure di emulsioni di materiali solidi, se nel singolo caso sia stata o no eseguita la prova del trapianto per constatare la morte della cultura. Vedremo presto l'importanza di questi rilievi.

Gli animali inoculati con culture vecchie, contenenti presumibilmente pochi germi ancora vivi e molta tossina, e con culture, che, per l'esito negativo della prova del trapianto, erano da ritenersi estinte, vennero a morte in generale dopo un periodo di uno o due mesi con fenomeni di cachessia ed offrirono all'autopsia un quadro, nelle sue linee generali, pressochè costante e caratterizzato da nodi di colorito biancastro, di consistenza carnosa, con aspetto di tumori, di diversa grossezza, disseminati in vario numero nell'omento sul peritoneo, sulla pleura, sul pericardio, nel fegato, nella milza, nel rene, nel polmone e nelle ghiandole linfatiche.

Talvolta, sebbene l'inoculazione fosse stata fatta nella cavità addominale, non si trovarono nodi nè nell'omento, nè sul peritoneo, ma solo uno o più tumoretti nel polmone ed in altri organi lontani dal punto d'innesto.

La struttura delle neoformazioni, per quanto si può giudicare dalle descrizioni istologiche un po' sommarie e dalle figure, avevano nei diversi casi e nei diversi organi una struttura pressochè uniforme, presentando una disposizione alveolare con un « *parenchima costituito da cellule con nucleo ampio, più o meno ricco di sostanza cromatica, con protoplasma abbondante dove nettamente limitato, dove fuso insieme col protoplasma delle cellule vicine* » ed uno stroma fatto da cellule fusate con nuclei allungati e scarse fibrille connettive.

Le differenze fra i singoli casi consistevano nella disposizione, ora schiettamente alveolare, ora come a palizzata attorno ad un ammasso centrale di materiale necrotico, ora a cordoni, ora a manicotto attorno ai vasi, più che nella forma, grandezza e struttura degli elementi.

Questi tumori da Sanfelice vennero giudicati, almeno nella grande maggioranza, come endoteliomi; i nodi primitivi deriverebbero dalle cellule di rivestimento del peritoneo o dei vasi, a seconda che l'iniezione viene fatta per via endoaddominale o venosa, i nodi secondari

da metastasi vera, cioè da emigrazione di elementi dei nodi primitivi per le vie sanguigne e linfatiche.

Il discutere con criterii istologici puri questa diagnosi, senza aver eseguite delle esperienze di controllo cogli stessi materiali usati da Sanfelice e ponendosi nelle stesse condizioni, sarebbe impresa ardua e poco proficua: bisognerebbe considerare caso per caso, figura per figura, e poi il giudizio, come tutti i giudizi dedotti dalle osservazioni istopatologiche sui tumori, non avrebbe che un valore di probabilità, di presunzione. Bisogna ben ricordare poi che siamo nel campo degli endoteliomi, e non si tratta certo di endoteliomi tipici, e che proprio questi sono i tumori, che più difficilmente si possono distinguere, per i caratteri dei loro elementi, dai nodi che si formano intorno a corpi estranei e ad ammassi di sostanza necrotica e dai granulomi di origine infettiva, tanto è vero che ad alcuni elementi di certi granulomi si è dato il nome di cellule endotelioidi!

Io credo di non errare affermando che nessun istologo dall'esame spassionato delle descrizioni e delle figure finora pubblicate da Sanfelice riuscirà a formarsi la convinzione sicura che le neoformazioni, da lui prodotte, siano veri blastomi; che cosa esse siano forse per ora non è possibile decidere; le osservazioni di controllo forse porteranno a sceverare caso da caso, a formulare sui singoli reperti dei giudizi diversi.

Intanto però alcuni rilievi, e non privi di significato, si impongono: per spiegare l'uniformità della struttura dei noduli, che si trovano sparsi nei vari organi lontano dal punto dell'inoculazione, Sanfelice ammette che questi nodi siano vere metastasi, derivate dalla moltiplicazione di cellule migrate dal nodo primitivo; ma, quando il nodo primitivo al punto d'innesto non si forma, egli stesso suppone, già l'ho ricordato, che la tossina, non trovando nel tessuto, nel quale vien introdotta, degli elementi recettivi, si diffonda nell'organismo e, venuta in contatto con cellule dotate in grado maggiore della specifica recettività, a quelle si fissi stimolandole alla proliferazione atipica; ora, è ovvio domandare: perchè anche in questi casi i nodi hanno tutti struttura endoteliale, perchè solo gli endotelii rispondono allo stimolo della tossina, perchè alla formazione dei nodi nei vari organi non prendono parte gli elementi proprii dell'organo?

Anche in due casi, nei quali l'inoculazione della tossina fu fatta nello spessore della mammella nel cane, il risultato fu la formazione di tumoretti del solito tipo: « *il parenchima era costituito da cellule con nuclei grandi e con corpi protoplasmatici fusi in guisa da non potersi distinguere i limiti cellulari* ». Gli elementi avevano una disposizione perivasale — diagnosi: peritelioma — l'epitelio della ghiandola mammaria, l'autore stesso lo dichiara, non prendeva alcuna parte alla neoformazione.

In questo io ravviso il punto più debole della dottrina di Sanfelice; se le idee generali da lui sostenute sull'azione delle tossine blastomicetiche corrispondessero al vero, quando la tossina o viene direttamente iniettata o, diffusasi per l'organismo, elettivamente si fissa in organi diversi, ne dovrebbero risultare tumori di struttura diversa. Almeno in qualche caso dovremmo vedere formarsi nel rene, nel fegato, nelle mammelle dei veri tumori epiteliali collo stesso meccanismo, col quale nell'omento si formano i pretesi endoteliomi.

Forse avvertendo di non aver potuto raggiungere la dimostrazione sicura della natura blastomatosa dei nodi da lui prodotti basandosi solo sui caratteri istologici, Sanfelice ha cercato di girare la difficoltà e di arrivare allo scopo per altre vie, dimostrando, cioè, che i nodi stessi posseggono una delle proprietà caratteristiche di certi neoplasmi, la capacità di riprodursi per innesto in animali della stessa specie. Ed infatti è riuscito in 13 casi a trapiantare dei tumori prodotti coi suoi metodi nei ratti per 3, 4, 5 generazioni ottenendo, non solo l'attecchimento dell'innesto, ma anche formazione di metastasi e l'apparizione di nodi multipli in vari organi senza che nel luogo dell'innesto si formasse il nodo primitivo.

Queste esperienze sarebbero da considerare decisive per dimostrare la natura neoplastica delle formazioni in questione, e, di fronte ad esse, perderebbero ogni interesse tutte le disquisizioni istologiche; ma, disgraziatamente dalla lettura del lavoro, nel quale le esperienze sono riferite, non si ricava la convinzione che i tumori dei ratti, dimostratisi trapiantabili, fossero stati ottenuti colla iniezione di sole tossine, sicuramente esenti da germi capaci di moltiplicarsi; nè che siano state fatte ricerche abbastanza inesistenti, coll'esame diretto e colle culture, per verificare se in detti tumori proprio non esistessero dei saccaromiceti vivi.

Questa deficienza toglie all'esperienza ogni valore probativo, giacchè, se i tumori primitivi contenevano dei saccaromiceti vivi, la riproduzione per trapianto per un numero indefinito di generazioni diventa un fatto di spiegazione più che ovvia.

Anche in altri punti dei suoi lavori Sanfelice è poco esplicito nel precisare, nei singoli casi, se, e con quali mezzi, si sia assicurato che le tossine, che egli usava, erano veramente prive di germi vivi. La prova del trapianto, per assicurarsi che una cultura è morta, non ha un valore assoluto; tutti sanno per esperienza che spesso una cultura non è più trasportabile, mentre riesce ancora a produrre l'infezione, quando venga inoculata *in massa* ad un animale recettivo. Ora, se noi per un momento supponiamo che Sanfelice abbia adoperato, almeno in molti casi, non pure tossine, ma culture vecchie contenenti ancora qualche germe vitale, se ammettiamo che i saccaromiceti attenuati siano capaci di produrre nei tessuti una reazione caratterizzata dall'accumulo di elementi mononucleati endotelioidi con scarsi fatti di infiltrazione parvicellulare, mentre i saccaromiceti provenienti da culture giovani, moltiplicandosi rigogliosamente nei tessuti, si diffondono presto in tutto l'organismo e provocano delle reazioni del tipo delle infiammazioni batteriche, se ammettiamo questi postulati, molti dei fatti descritti da Sanfelice riceverebbero una spiegazione facile e piana.

Se queste supposizioni siano da accettarsi o da respingersi potranno dirlo solo le osservazioni e le esperienze di controllo, che Sanfelice stesso dovrebbe, nel suo interesse e nell'interesse della scienza, augurarsi sollecite e complete.

Il terzo gruppo delle ricerche di Sanfelice comprende i tentativi di sieroterapia dei tumori maligni: l'argomento parrebbe a prima vista esorbitare dal compito a me assegnato, ma in realtà vi rientra, perchè il giudizio sui risultati delle esperienze di sieroterapia dei tumori dipende dalla diagnosi istologica dei tumori, sui quali la cura è stata tentata, e dall'apprezzamento delle modificazioni di struttura, che in essi si sono verificate in seguito alla cura.

Sanfelice usò del siero di cani preparati con ripetute iniezioni di culture vecchie di blastomiceti patogeni, che non contenevano più germi vivi, ma solo i loro corpi ed i loro prodotti tossici solubili. Le iniezioni di siero vennero fatte in dosi di 20-30 cmc. sotto la

cute e ripetute ad intervalli di alcuni giorni fino a raggiungere la quantità totale di 200, 300, 350 cmc. in un periodo di 2, 3 mesi.

Le esperienze, delle quali finora è stato pubblicato il risultato, riguardano 11 cani, di questi 7, due maschi e cinque femmine, presentavano la ben nota malattia dei genitali, che va sotto il nome di sarcoma di Sticker, tre femmine erano affette da cancro delle mammelle, ed una aveva un tumore del connettivo sottocutaneo che, in base solo all'esame clinico, fu giudicato un sarcoma.

I sette cani affetti da tumori dei genitali guarirono tutti più o meno completamente: per apprezzare però al suo giusto valore questo risultato, in apparenza brillante, bisogna tener conto di due circostanze di fatto, delle quali a nessuno potrà sfuggire l'importanza:

1° che il tumore di Sticker, sebbene abbia una struttura molto simile a quella dei sarcomi a cellule rotonde, si differenzia dai veri tumori per la contagiosità (diffusione coi contatti sessuali), per la trasmissibilità per innesto in animali di razza ed anche di specie diversa, pel fatto, come risulta dagli studi di Bashford e Wade, che, quando vien riprodotto sperimentalmente per innesto, non si sviluppa, come i veri tumori, dagli elementi innestati, ma alla sua formazione prendono parte anche gli elementi dell'ospite;

2° che i tumori di Sticker sono guaribili spontaneamente e, dopo aver raggiunto proporzioni considerevoli, spesso regrediscono e in breve tempo si riassorbono completamente.

Fatti di regressione spontanea sono riferiti con tutti i particolari nei lavori di Sticker (39), fatti simili sono ricordati da Bashford e da Beebe ed Ewing (40) ed io stesso di recente ho avuto occasione di osservarne parecchi esempi.

Ricordo un cane che aveva alla regione inguinale un tumore sviluppatosi in seguito ad innesto; la neoformazione andò lentamente aumentando per un paio di mesi, fino a raggiungere il volume di un uovo di gallina, poi ad un tratto, senza ragione apparente, cominciò a regredire rapidamente ed in meno di tre settimane scomparve del tutto. Di recente in America Crile e Beebe (41) osservarono la regressione del tumore dei genitali dei cani in seguito a trasfusione di sangue di cani immuni, - forse anche in questi casi si tratta di guarigione spontanea! Per queste ragioni è, a mio avviso, da giudicarsi poco opportuna la scelta di questa malattia dei cani per sperimentare l'azione di un siero contro i tumori maligni in generale.

I risultati positivi ottenuti hanno un valore *scarso* come prova dell'efficacia terapeutica del siero contro questa particolare affezione, perchè essa è spesso guaribile spontaneamente, ed un valore *nullo* come prova dell'efficacia del siero contro i tumori maligni, perchè non è dimostrato che lo pseudo-sarcoma di Sticker sia da classificarsi fra i tumori maligni.

Nei tre casi di cancro della mammella sulla diagnosi della natura dei tumori non vi è luogo a discussioni, perchè in ciascuno fu eseguito l'esame istologico di un frammento escisso prima dell'inizio della cura. Ma i risultati qui furono molto diversi da quelli ottenuti nei tumori dei genitali: in nessuno dei tre casi si ebbe guarigione completa. Infatti nella prima cagna « *tre mesi dopo l'inizio della cura, vedendo che il tumore, quantunque avesse diminuito di consistenza e di volume, non era scomparso* l'A. decide di esportarlo; nella seconda « *dopo quattro mesi dall'inizio della cura, vedendo che il tumore era diminuito un po' di volume e di consistenza, ma non era scomparso, si decide di portarlo via* » e nella terza « *cinque mesi dopo l'inizio della cura fu escissa la neoplasia, che era diminuita di volume e di consistenza* ».

L'esame microscopico dei tre tumori asportati dopo la cura col siero ha permesso di rilevare delle note di degenerazione avanzata del tessuto canceroso, fatti di calcificazione, formazione di cisti e specialmente una particolare ipertrofia con degenerazione ialina dello stroma connettivo, il quale finisce coll'isolare e strozzare gli elementi cancerosi, così che il tumore per larghe zone appare trasformato in una massa omogenea, colorabile in bluastro coll'ematossilina, racchiudente qua e là, come in piccole nicchie, cellule cancerigne isolate od a gruppi in istato di degenerazione e di necrobiosi. Su queste modificazioni regressive del tessuto canceroso Sanfelice fonda la conclusione che, anche nei casi di vero cancro della mammella, il siero ha spiegato una efficace azione terapeutica, sebbene non sia stata ottenuta la guarigione completa.

Tale conclusione, a mio avviso, non si può accettare senza riserve, perchè è noto che, nel cancro della mammella del cane, dei fatti regressivi molto accentuati ed, in particolare, la ipertrofia degenerativa dello stroma connettivo si osservano di frequente all'infuori di qualunque trattamento terapeutico. Io stesso ho esaminato quest'anno un caso di cancro della mammella in una cagna, nel quale

la parte maggiore del tumore, grosso come un pugno, era costituita da connettivo in degenerazione ialina, con ampie cavità cistiche, estese zone necrotiche e punti calcificati, mentre il tessuto canceroso ben riconoscibile anche ad occhio nudo pel suo colore bianco, era limitato a piccole isole o noduletti alla periferia. Nella massa di connettivo ialino si notavano, qua e là, gruppi di cellule epiteliali ed anche singoli elementi isolati, racchiusi entro piccole nicchie, così che l'insieme del tessuto assumeva un aspetto somigliante a quello di una cartilagine ialina, quell'aspetto stesso sul quale Sanfelice insiste nelle sue descrizioni.

Perciò io non credo che i fatti degenerativi e di reazione del connettivo osservati da Sanfelice nei cancri delle mammelle di cagna sottoposti alla sieroterapia siano da interpretarsi come manifestazioni di un processo di guarigione, provocato dal siero, ma piuttosto come fenomeni di regressione parziale, spontanea, che nel cancro delle mammelle del cane si osservano di frequente ed assumono una estensione ed una intensità maggiore che in altri tumori.

L'undicesimo ed ultimo caso riguarda una cagna, nella quale esisteva un grosso tumore sottocutaneo al lato sinistro dell'addome; si giudicò trattarsi di sarcoma e, fatta la cura col siero, si ottenne la guarigione completa. Anche questo successo però, ha ben scarso valore!

Prima della cura non si procedè alla escissione di un pezzo per l'esame istologico « *lasciando al siero, dice l'A., il compito di fare la diagnosi* » e si ammise la natura sarcomatosa dell'affezione in base ai semplici caratteri clinici!

Riassumendo, io credo che, davanti alle conclusioni formulate da Sanfelice sulla eziologia, patogenesi e cura dei tumori maligni si imponga per ora un atteggiamento di grande riserbo. Non si può accettare come un fatto dimostrato l'esistenza costante di saccaromiceti nei tumori maligni dell'uomo e degli animali; non è dimostrato che le formazioni prodotte negli animali coll'inoculazione di culture vecchie di blastomiceti e delle loro tossine siano veri tumori, perchè la loro struttura non depone in modo decisivo in tal senso e l'asserita proprietà dei loro elementi di resistere al trapianto in animali della stessa specie può essere simulata dalla presenza in essi di blastomiceti vivi.

I tentativi di sieroterapia non danno la prova dell'efficacia terapeutica dei sieri usati perchè nei casi, nei quali la cura ebbe esito positivo, non si trattava di veri tumori maligni, ma di una affezione di natura oscura e spesso guaribile spontaneamente; mentre nei casi di veri tumori maligni, istologicamente accertati, la cura ebbe esito negativo.

Tali essendo le condizioni del presente, non mi resta che esprimere l'augurio che le ulteriori ricerche del prof. Sanfelice valgano a sgombrare il terreno da tutti i dubbi, così che resti acquisita alla scienza italiana la gloria di aver fatto rifulgere la luce di una spiegazione definitiva nel campo tenebroso della eziologia dei tumori maligni.

.

Dopo di aver parlato dei lavori di Sanfelice mi sembra opportuno un cenno sui recenti studii di Borrel (42); i due autori infatti, pur dissentendo nei particolari, hanno in comune il concetto fondamentale della natura parassitaria dei tumori maligni ed inoltre si possono ravvicinare pel fatto, che sono entrambi rappresentanti quasi isolati di un indirizzo strettamente personale.

Borrel, impressionato da una serie di osservazioni sue o di altri autori, (Regaud, Saul, Bridrè), dalle quali risulta che in parecchi casi nel centro di tumori spontanei dei topi, dei ratti e dei cani, esistevano degli elminti o degli acari, ha istituito una serie di pazienti ricerche istologiche su formé iniziali di cancri cutanei dell'uomo per ricercare se, anche qui, si potessero raccogliere dei dati, che rivelassero un rapporto fra lo sviluppo del tumore e la presenza di qualche parassita.

Studiò a questo scopo su sezioni in serie 12 casi di cancri cutanei di pochi millimetri di diametro ed in tutti riuscì a dimostrare nei follicoli piliferi e nei dotti delle ghiandole sebacee la presenza di *Demodex*, mentre questi mancavano, od erano assai meno abbondanti, nelle regioni sane della cute degli stessi individui. In alcuni casi parve all'autore di poter rilevare che la trasformazione cancerosa dell'epitelio colpisse successivamente diversi follicoli piliferi o ghiandole sebacee vicine, diffondendosi dall'uno all'altra, così che spesso i cancri iniziali apparivano formati da centri multipli,

che solo più tardi confluivano fra loro; ed afferma che questo processo di trasformazione cellulare ad inizio multiplo può essere facilmente spiegato con una ipotesi parassitaria.

La presenza costante di *Demodex* nei follicoli, in cui la trasformazione cancerosa sta iniziandosi, gli dà ragione di ritenere, sia pure con molte riserve, che questi parassiti possano pei cancri tanei in qualche modo rappresentare il veicolo dell'ignoto virus canceroso.

Le cellule cancerose poi, una volta formate per l'azione del virus sugli epiteli normali, sarebbero capaci di proliferare in modo indefinito e così invadere i tessuti vicini e dare metastasi nelle ghiandole linfatiche e negli organi lontani. Anche in alcuni casi di cancro del seno, specialmente in uno, nel quale il tumore si era sviluppato in seguito ad una affezione eczematosa del capezzolo, Borrel ha potuto dimostrare la presenza di *Demodex* nelle ghiandole sebacee del capezzolo, mentre questi parassiti sono piuttosto rari nelle ghiandole dei capezzoli normali; finalmente nei topi riuscì a raccogliere qualche indizio di un rapporto fra la presenza di acari nelle ghiandole sebacee perimammarie e lo sviluppo di cancri primitivi nella mammella.

Tutti questi fatti ed altri raccolti nella letteratura riguardanti la statistica e la distribuzione geografica del cancro, la maggior frequenza dei casi di tumori spontanei del topo in certi allevamenti ed in certe gabbie ecc.; Borrel fa convergere ingegnosamente a sostegno della dottrina, da lui messa avanti, ripeto, in forma molto dubitativa, che dei macroparassiti, elminti per i tumori degli organi interni, acari o forme analoghe per i tumori della cute o degli organi forniti di canali che sboccano alla superficie del corpo, abbiano una parte importante nella patogenesi dei tumori maligni, come veicoli capaci di trasportare a contatto degli elementi l'ignoto virus produttore della trasformazione cancerosa.

Da questo concetto patogenetico l'autore deduce naturalmente anche delle conseguenze pratiche mettendo in guardia contro i possibili pericoli inerenti alla presenza di un gruppo di parassiti fino ad ora ritenuti quasi innocui.

La dottrina di Borrel ha avuto fino ad ora scarsissimo seguito; la tendenza prevalente nel momento attuale è contraria alle dottrine parassitarie e, d'altra parte, i fatti enunciati non hanno un valore

decisivo e sono ancora troppo poco numerosi per escludere il dubbio che si tratti di pure coincidenze fortuite.

Da un punto di vista istopatologico non si può a meno di osservare, inoltre, che la diagnosi in forme affatto iniziali come quelle osservate da Borrel, cancri di 1, 2, 3 millimetri di diametro, presenta delle difficoltà gravissime, specialmente quando si deve distinguere fra l'inizio di una neoplasia maligna vera e dei fatti di iperplasia degli epiteli da irritazione cronica. Coll' esame attento delle descrizioni e delle figure non si riesce ad eliminare del tutto il sospetto che, almeno in alcuni casi, sia incorso un errore di diagnosi e che siano stati interpretati come forme iniziali di cancro dei semplici fatti iperplastici delle ghiandole sebacee e dei follicoli piliferi legati appunto alla irritazione cronica prodotta dalla presenza dei *Demodex*.

Se è così, si spiega facilmente e la molteplicità dei centri primitivi di alterazione e la presenza esclusiva dei *Demodex* nei punti alterati.

Anche di fronte a questa dottrina, dunque, è giustificato per ora un atteggiamento di prudente riserbo.

V.

Un campo di ricerche, che promette di dare dei risultati molto interessanti anche per l'istologo, sebbene solo negli ultimi tempi siano cominciati gli studi in questo particolare indirizzo, è quello della immunità contro i tumori maligni. Dato che, come è ben noto, con vari procedimenti si può produrre negli animali uno stato di immunità contro alcuni tumori maligni trasmissibili, si presenta il problema se i fenomeni, che si svolgono nei tessuti dell'ospite attorno al frammento di tumore innestato, presentano, dal punto di vista morfologico, qualche differenza a seconda che l'animale si trova o no, in istato di immunità contro il tumore; se, in altre parole, gli animali immuni reagiscono contro l'innesto di un tumore maligno con modificazioni locali, istologicamente rilevabili, dei propri tessuti.

Richiamo alcune notizie collaterali che servono a lumeggiare la questione.

Negli innesti di tessuti normali la reazione locale varia, come hanno dimostrato le originali ricerche dello Zancarini (43), a se-

conda che si tratta di innesti omogenei od eterogenei, a seconda della natura del tessuto innestato (reazione assai vivace pel fegato, minima per i muscoli striati), a seconda che il tessuto viene innestato fresco o prima sottoposto a particolari trattamenti. Il riscaldamento preventivo dell'innesto a 55 gradi, per esempio, ha per effetto una notevole diminuzione della reazione e questa manca quasi del tutto se il riscaldamento è spinto fino a 70 gradi. Ad alcune di tali variazioni noi possiamo dare il significato di manifestazioni di uno stato di immunità sia pure incompleta o parziale, perchè Schöne (44) ha dimostrato che stati di immunità, anche contro i tessuti normali, esistono in natura e si possono produrre sperimentalmente.

D'altra parte certi granulomi infettivi, per esempio, i tubercoli, mostrano delle differenze di struttura qualitative e quantitative talora cospicue, particolarmente a carico di quelli, fra i loro elementi costituenti, che rappresentano la reazione attiva dei tessuti dell'ospite all'agente patogeno, a seconda della specie, degli individui, dell'organo colpito; differenze che, se si tien conto degli studii recenti, vi è ragione di pensare dipendano da stati di immunità parziale, forse di immunità locale.

Sono fatti certo assai diversi fra loro; però il ravvicinarli, il metterli a raffronto, giova per apprezzare quanto sia larga la portata dei nuovi problemi che proprio ora sono stati messi sul tappeto e che forse sono destinati a modificare radicalmente i criteri attuali per il raggruppamento e la classificazione dei fatti patologici.

Il lavoro più notevole del nuovo indirizzo è quello di Von Dungern sui sarcomi delle lepri (45). Questo autore ha casualmente trovato in alcune lepri un tumore con struttura di sarcoma, che prende origine dagli integumenti, localizzandosi di solito alla base del padiglione dell'orecchio e nei dintorni dell'occhio.

La neoplasia è facilmente riproducibile coll'innesto, non solo nelle lepri, ma anche nei conigli, perciò Von Dungern se ne è servito per le sue esperienze intese a dimostrare, per mezzo di delicate reazioni immunitarie, che gli elementi dei tumori trasmissibili, pure adattandosi a vivere in organismi diversi da quello, nel quale hanno avuto origine, conservano, entro certi limiti, la loro indipendenza ed i loro primitivi caratteri. Egli infatti riscontrò che gli elementi

dei sarcomi della lepre, dopo essere stati riprodotti per una serie di generazioni nei conigli, conservano i caratteri specifici di elementi di lepre e quindi sono capaci di provocare nel coniglio la formazione di anticorpi specifici (precipitine ed agglutinine) rispettivamente contro il siero ed i globuli rossi di lepre. L'autore è riuscito anche a produrre artificialmente, sia nel coniglio, che nella lepre, uno stato di immunità attiva contro il tumore ed è appunto lo studio istologico dei fenomeni di reazione locale, che avvengono intorno all'innesto negli animali immuni in confronto con quelli che avvengono negli animali recettivi, che costituisce la parte del lavoro più interessante per noi.

I conigli immuni presentano attorno all'innesto una reazione locale molto più intensa in confronto degli animali recettivi: mentre in questi apparisce al punto dell'innesto sotto la cute dell'orecchio solo un piccolo ispessimento circoscritto, in quelli, anche quando è escluso il dubbio di un accidentale intervento di germi, si ha un gonfiore considerevole esteso a tutta la parte prossimale del padiglione. Se si procede all'esame istologico in un animale immune, dopo due giorni, si rileva che il pezzo innestato è in stato di necrobiosi e riccamente infiltrato di elementi cellulari, leucociti e grandi mononucleati (macrofagi) carichi di zolle e granuli, inglobati. Elementi in tutto simili a questi ultimi si trovano anche nei capillari e nelle piccole vene; nelle vene più prossime al focolaio necrotico l'accumulo di elementi mononucleati simili in tutto agli accennati macrofagi è tale da occludere il vaso, provocando la trombosi. Nella zona periferica del focolaio si nota inoltre una abbondante infiltrazione perivasale di linfociti e di *Plasmazellen*. L'A. rileva che questo quadro istologico ricorda esattamente quello offerto dai tubercoli tipici; nell'uno e nell'altro caso abbiamo essenzialmente una zona centrale necrotica, circondata da elementi mononucleati grandi (cellule endotelioidi od epitelioidi) ed una zona marginale di infiltrazione parvicellulare costituita da linfociti e *Plasmazellen*. Per rendere l'analogia completa spesso si riscontrano anche cellule giganti colla caratteristica corona di nuclei alla periferia.

Negli animali recettivi il quadro è affatto diverso: attorno al pezzo innestato, che si necrotizza solo in piccola parte, si osservano pochi macrofagi, mancano del tutto l'infiltrazione parvicellulare e le alterazioni dei vasi.

Negli animali, che già portano dei tumori in via di sviluppo, in seguito ad una iniezione di nuovo materiale neoplastico, si verificano, attorno ai tumori già esistenti, dei fenomeni di reazione simili a quelli descritti negli animali immuni. Questo fatto, come è ovvio comprendere, è di notevole importanza in quanto include la dimostrazione, che lo stato di immunità, anche se si stabilisce durante il corso della malattia, può determinare un attivo processo di reazione locale attorno ai tumori già formati, ed offre nuovi elementi per la spiegazione dei processi di involuzione e di guarigione spontanea frequenti a riscontrarsi nei tumori degli animali.

Per spiegare i fatti osservati, Von Dungern mette avanti una ipotesi, che si ricollega coi fenomeni di ipersensibilità acquisita o di anafilassi, che negli ultimi tempi sono andati assumendo tanta importanza nel campo dell'immunità. Egli pensa che, in seguito ad una prima inoculazione del tumore, passino in circolo delle sostanze protoplasmatiche, derivate dal parziale disfacimento del tessuto, che, assorbite dai macrofagi o dagli elementi normali, dai quali essi derivano, provocano in queste cellule, dopo un certo tempo, uno stato di ipersensibilità di fronte alle sostanze stesse. Perciò, in seguito ad una seconda inoculazione dello stesso tumore, ripetendosi l'immissione in circolo di quelle sostanze, le cellule ipersensibili reagirebbero più rapidamente e con maggiore intensità. Senza voler esprimere un giudizio sul valore di questa ipotesi, sulla quale si potrebbe in via pregiudiziale osservare, che si limita a prendere in considerazione essenzialmente i macrofagi trascurando la reazione parvicellulare (linfociti e *Plasmazellen*), mi sembra opportuno accennare ad un altro esempio che mostra come lo stato di ipersensibilità dell'organismo, si possa manifestare, date certe condizioni, sotto forma di una reazione locale.

Voglio alludere alle alterazioni istologiche che sono state descritte nelle papule ottenute coll'applicazione cutanea della tubercolina negli individui affetti da processi tubercolari. Esiste ormai a questo proposito una letteratura abbastanza ricca, ben riassunta in una recente memoria di Vallardi (46), e gli autori sono d'accordo nel ritenere, che la formazione delle papule caratteristiche della cutireazione positiva sia legata alla formazione di un essudato, che si localizza attorno ai vasi della porzione papillare del derma ed è costituito da linfociti e da *Plasmazellen*. È evidente che l'ipotesi di

Von Dungern si può applicare anche alla spiegazione di questo fenomeno, che d'altra parte rientra, per consenso unanime, nel grande quadro delle manifestazioni anafilattiche.

Sono lieto di poter infine ricordare, per cortese comunicazione orale dell'autore, che uno studioso italiano, il dott. Da Fano, si è di recente occupato di questo argomento nell'Istituto imperiale per le ricerche sul cancro di Londra, scegliendo come materiale di studio un cancro del topo.

Con osservazioni comparative sulle modificazioni istologiche reattive, che si verificano attorno ad un frammento di tumore innestato negli animali recettivi, negli animali immuni ed in quelli che si trovano in diversi stadii del processo di immunizzazione, Da Fano è riuscito a mettere in evidenza dei fatti di grande interesse, che, da una parte si ricollegano a quelli descritti da Von Dungern, mentre d'altra parte già fanno intravedere un più largo orizzonte di studii. Egli ha rilevato che, mentre negli animali recettivi ed in quelli nei quali lo stato di immunità è completamente stabilito, mancano attorno al frammento di tumore innestato i segni di reazione da parte del tessuto dell'ospite, e in particolare non vi è traccia di infiltrazione, invece nel periodo, in cui l'immunità sta stabilendosi, si verifica attorno all'innesto una reazione intensa caratterizzata dalla formazione di un abbondante essudato di linfociti e di *Plasmazellen*. Inoltre, e questo è il fatto più singolare e più suggestivo, in questi animali appaiono dei focolai di linfociti e di *Plasmazellen* nel connettivo sottocutaneo anche a distanza del punto di innesto.

Anche Da Fano ha osservato che, se nel momento in cui si produce lo stato di immunità, esistono già dei tumori nell'animale, attorno a questi pure si manifestano dei fatti di infiltrazione parvicellulare cogli stessi caratteri sopra ricordati.

Di questo gruppo di ricerche, che si devono considerare come saggi preliminari di orientamento in un campo ancora inesplorato, ma molto promettente, sarebbe prematuro aspettarsi delle conclusioni precise; limitiamoci dunque a constatare che esse segnano una nuova via, un nuovo indirizzo, formando l'augurio che da una più esatta conoscenza dei rapporti fra tumori ed organismo, dalle nuove concezioni del meccanismo dell'immunità, si possano presto dedurre dei dati, non solo interessanti per la dottrina, ma anche suscettibili di qualche utile applicazione pratica.

Se ora, dopo aver passato rapidamente in rivista i più salienti risultati conseguiti nell'ultimo periodo colle indagini di ordine morfologico sui tumori maligni, ci domandiamo quali sono le nuove sicure conquiste che la scienza ha fatto in questo campo, dobbiamo constatare che, malgrado l'immane lavoro compiuto, malgrado il nuovo, intenso fervore di studii manifestatosi in tutti i paesi, malgrado che mezzi cospicui siano stati destinati a questi studii e le più illuminate intelligenze vi si siano dedicate, il problema eziologico e patogenetico del cancro rimane insoluto. Non un raggio di luce è venuto ad illuminare quel processo misterioso, per cui un elemento normale, in un dato momento della sua vita, acquista la proprietà delle cellule cancerose, non un indizio sulle cause che determinano quella trasformazione.

Se il problema fondamentale, però, è rimasto insoluto, una imponente messe di fatti è stata raccolta, una serie di cognizioni parziali, vagliate e controllate, sono venute ad arricchire il patrimonio della scienza, l'edificio del sapere si è completato e consolidato, speriamo che presto sorga la mente geniale che dovrà completarne il coronamento! (*Applausi*).

- (1) RIBBERT H. — Das Wesen der Krankheit. — *Bonn, F. Cohen*, 1909.
 (2) EHRLICH u. APOLANT — Beobachtungen über maligne Mäusetumoren. — *Berl. Klin. Woch.*, 1905, N. 23. APOLANT H. — Die epithelialen Geschwülste der Mäuse. — *Arb. aus d. Königl. Inst. f. exp. Therapie zu Frankfurt a/M.*, H. 1, 1906. EHRLICH u. APOLANT. — Weitere Erfahrungen über die Sarkomentwicklung bei Mäusecarcinomen. — *Berl. Klin. Woch.*, 1905, N. 2, APOLANT H. — Die experimentelle Erforschung der Geschwülste. — *Handb. d. path. Mikroorg.* Kolle u. Wassermann, I Ergänzungsband, 1906 (3) LOEB LEO — Further experimental investigations into the Growth of Tumours. — *The University of Pennsylvania Med. Bull.* July, 1906. Id. — Ueber Entwicklung eines Sarcoms nach Transplantation eines Carcinoms, — *D. med. Woch.*, 1908, N. 1. Id. — Ueber Sarkomentwicklung bei einem drüsenartigen Mäusetumor. — *Berl. Klin. Woch.*, 1906, N. 24. Id. — Ueber Entstehung eines Sarkoms nach Transplantation eines Adeno-carcinoms einer Japanischen Maus. — *Zeitschr. f. Krebsforsch.*, Bd. 7. H. I, 1908. (4) LIEPMANN — Demonstration vor der XII. Versammlung der d. Gesel. f. Gynäkologie. — *Dresden*, 1907. Autoreferat in « *Münch. med. Woch.* », 1907, N. 27. (5) BASHFORD, MURRAY and HAALAND. — Ergebnisse der exp. Krebsforschung — *Berl. Klin. Woch.*, 1907, N. 38-39. (6) LEWIN — Experimentelle Beiträge zur Morphologie und Biologie bösartiger Geschwülste bei Ratten und Mäusen. — *Zeit. f. Krebs*, Bd. VI, H. 2, 1908. (7) HANSEMAN — *Verhand. d. deut.*

path. Gesell. Meran, 1905, S. 16-17. (8) SCHLAGENHAUFER — Carcinom und Riesenzellen-Sarkom derselben Mamma. — *Centralbl. f. allg. Path.*, 1906, N. 10. (9) EHRLICH u. APOLANT — Ueber spontane Mischtumoren der Maus. — *Berl. Klin. Woch.*, N. 44, 1907. (10) HAALAND — Contribution to the study of the development of Sarcoma under experimental conditions. — *3^d d. scient. Report of Imp. Cancer Research Fund*, 1908. (11) ORTH — Diskussion in Sitzung 14 Nov. 1907 des Deut. Zentralkomitees f. Krebsforschung. — *Zeit f. Krebs.*; Bd. 6, S. 431. (12) MONTI A. — Sull'istogenesi del melanoma maligno. — *Boll. Soc. med.*, Pavia, 1905. (13) HANSEMAN — *Die mikr. Diagnose d. bös. Geschwülste*, II Aufl., 1902. (14) SAVOR — Psammocarcinom in einem Cervicalpolypen. — *Cent. f. Gyn.*, 1897, N. 30. (15) STICKER — Versammlung d. deut. Gesell. f. Chirurgie. — *April 1909*. (16) ORTHNER — Wachstum und Wachstumstillstand gutartiger und bösartiger Geschwülste. — *Wiener Klin. Woch.*, N. 45, 1907. (17) APOLANT — Referat über die Genese des Carcinoms, — *Verh. d. deut. path. Gesell.*, 12 Tag. in Kiel., 1908. (18) HANSEMAN — Diskussionbemerkungen über einige Geschwulstfragen. — *D. med. Woch.*, N. 1, 1909. — (19) HAALAND — Experimente an einem Mischtumor. — *Berl. Klin. Woch.*, 1906, N. 2. (20) EHRLICH C. — Experimentelle Studien an Mäusetumoren. Int. Konf. f. Krebsf. — Sept. 1906, *Zeit. f. Krebs.*, Bd. 5, S. 68. (21) APOLANT — Ueber exp. erzeugten Ruckschlag von Mäuse-karcinom in den histologischen Typus des Adenoms. — *Münch. med. Woch.*, 1907, N. 3. (22) VEDI LIPPMANN — Das Carcinoma sarcomatodes. — *Inaug. Diss. Halle*, 1907. (23) JENSEN — Experimentelle Untersuchungen über Krebs bei Mäusen. — *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. 34. Or. 1903. (24) BASHFORD, MURRAY and CRAMER — Source of constituent elements of new growths obtained by artificial propagation. — *2^d Scient. Reports Imp. Cancer Research Fund*, 1905. (25) BASHFORD — Comparison between the transmission of an infective granuloma of the dog and Carcinoma of the mouse. — *2^d Scient. Reports Imp. Cancer. Research Fund*, 1905. (26) WADE — An experimental investigation of infective Sarcoma of the dog with a consideration of its relations to cancer. — *Journal of Path. and Bakt.*, Vol. XII, N. 2, 3. (27) EHRLICH — Experimentelle Studien an Mäusetumoren — *Zeitsch f. Krebs*, Bd. V, S. 71. (28) FISCHER B. — Die experimentelle Erzeugung atypischer Epithelwucherungen und die Entstehung bösartiger Geschwülste. — *Münch. med. Woch.*, 1906, N. 42. (29) JORES — Ueber Art und Zustandekommen der von B. Fischer mittel Scharlachöl erzeugten Epithelwucherungen. — *Münch. med. Woch.*, 1907, N. 18. (30) STAHR — Atypische Epithelwucherungen und Karzinom. — *Münch. med. Woch.*, 1907, N. 24. (31) SNOW — An attempt to produce an atypical epithelial growth by injection of Scharlach Roth in olive oil. — *Journal of Infection's Diseases*, Chicago, 1907, IV. (32) HELMHOLTZ — Experimental epithelial proliferations of skin and mucous membrans *Johns Hopkins Hospital Bulletin*, 1907, Vol. 18. Id. — An experimental multiple Chondrom. — *Ibidem*. (33) LEWIN ISAAC — Reactive Cells proliferation in the white rat. — *Journal of exp. Medicine*, Vol. 10, pag. 811. (34) STOEGER — Experimentelle Untersuchungen über die Erzeugung atypischer Epithelwucherungen. — *Münch. med. Woch.*, 1909.,

- N. 3. (35) SCHREIBER und WENGLER — Ueber Wirkungen des Scharlachöls auf die Netzhaut. — *Cent. f. allg. Path.*, N. 13, 1908. (36) FIORITO G. — La produzione sperimentale di proliferazioni epiteliali atipiche — *Arch. Scienze med.*, 1909. (37) LEWIN G. — Ueber exp. bei Hunden erzeugten verimpfbare Tumoren nach Übertragung von menschlichen Krebsmaterial. — *Zeitsch. f. Krebs*, Bd. 4, H. 1, 1906. (38) SANFELICE — Sull'azione dei prodotti solubili dei blastomiceti in rapporto alla eziologia dei tumori maligni. — *Annali di Igiene*, 1907. Id. — Sull'azione dei prodotti solubili dei blastomiceti in rapporto alla eziologia dei tumori maligni. — *Annali di Igiene*, 1908, Vol. 18, p. 1. Id. — Tossine ed antitossine dei blastomiceti patogeni in rapporto alla eziologia ed alla cura dei tumori maligni. — *Annali di Igiene*, 1908, Vol. 18, p. 503. (39) STICKER — Transplantables Lymphosarkom des Hundes. — *Zeit. f. Krebs*, Bd. 7, I, 1904. Id. — Immunität und spontane Heilung der Krebskrankheit. — *Zeit. f. Krebs.*, Bd. 7, H. I, 1908. (40) BEEBE und EWING — A study of the so called infections Lymphosarcoma of dogs. — *The Journ. of med. Research*, Vol. XV, 1906. (41) GRILE and BEEBE — Transfusion of blood in dogs affected with Lymphosarcoma. — *Studies from the Dep. of. Path. Cornell University*, Vol. VIII, 1908. (42) BORREL — Acariens et cancer. — *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1909, N. 2. (43) ZANCARINI — Ricerche comparative sulla reazione destata dagli innesti di tessuti vivi e riscaldati. — *Giornale della R. Accademia di Torino*, 1908, N. 7-8. (44) SCHÖNE — Vergleichende Untersuchungen über die Transplantation von Geschwülsten und von normalen Geweben. — *Beiträge zur Klin. Chirurgie*, Bd. 61, H. I, 1908. (45) VON DUNGERN — Ueber Hasensarkome, die in Kaninchen wachsen, und über das Wesen der Geschwulstimmunität. — *Zeit. f. Immunitätsforschung und exp. Therapie*, Bd. 2, H. 4, 1909. Id. — Ueber Immunität gegen Geschwülste. — *Mediz. Klinik*, 1909, N. 28. (46) VALLARDI C. — Le reazioni congiuntivale e cutanea alla tubercolina nella diagnosi e nella prognosi dell'infezione tubercolare. — *Suppl. N. 1, al Vol. I, di "La Tuberculosis"*, 1909.

